Ueber

Infusionen von C. Paal'schem salzsauren Glutinpepton in die Blutbahn.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medicinischen Doktorwürde

der hohen medicinischen Fakultät

der kgl. bayr. Friedrich-Alexanders-Universität

zu Erlangen

im März 1893

vorgelegt

von

Fritz Heubach,

approb. Arzt aus Deutsch-Eylau (Pr.).

Erlangen 1893.

Druck der Universitäts-Buchdruckerei von E. Th. Jacob.

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Fakultät zu Erlangen.

Referent: Professor Dr. J. Rosenthal.

Promotionsprüfung am 7. März 1893.

Die Frage nach der Resorption der Eiweisskörper, welche vor einigen Jahren noch der Gegenstand lebhafter Controversen gewesen ist, dürfte vor allem durch die schönen Untersuchungen Neumeister's definitiv dahin entschieden sein, dass die Eiweisskörper vor ihrer Resorption zum allergrössten Teil erst in Peptone umgewandelt werden, dass daneben aber noch gewisse Eiweissarten unverändert die Darmwand passieren können. Derselbe Forscher hat auch nachgewiesen, dass die Peptone auf ihrem Wege durch die Darmwand durch irgendwelche entweder unerklärliche oder bisher nur unerklärte vitale Vorgänge, die sich entweder in den Epithelien oder in den Leukocyten der Darmwand abspielen, wieder in Eiweiss regeneriert werden. Diesem Ergebnis entspricht auch der mit Hülfe neuerer Untersuchungsmethoden erbrachte Nachweis, dass die früher geltende Ansicht, es seien während der Eiweissverdauung Peptone in der Blutbahn vorhanden, jeder analytischen Begründung entbehrt.

Die Erweiterung unserer Kenntnis von der Eiweissresorption ist vor allem auf zwei Wegen herbeigeführt worden. Einmal hat man reine Peptone an Hunde verfüttert und dabei gefunden, dass sie vollkommen äquivalente Mengen von Eiweisskörpern zu ersetzen vermögen, und dann hat man das Verhalten der Eiweisskörper resp. Peptone bei ihrer direkten Einführung in die Säftemasse geprüft.

Neumeister hat durch verschiedene Tierversuche gezeigt[1]), „dass bei direkter Einführung der Eiweisskörper in die Blutbahn diejenigen assimiliert werden, welche, auf normalem Wege in die Säftemasse gelangend, denselben auch beschreiten können, ohne dass sie den digestiven Processen erliegen, dass sich dagegen die Säftemasse derjenigen Eiweisssubstanzen als Fremdkörper entledigt, welche diesen Weg ohne Umsetzungen nicht zurücklegen

1) Neumeister, Zur Physiologie der Eiweissresorption. Habilitationsschrift. Jena 1890, p. 9.

können.“ Er verwandte zu diesen Versuchen Syntonin und Albuminat aus Eiereiweiss, Syntonin aus Rindsmuskeln, krystallinisches Phytovitellin aus Kürbissamen, sowie reines Serumalbumin, nach deren Injektion er niemals das Auftreten von Eiweiss im Harn beobachtete. Damit widerlegte er zugleich die Annahme[1]), „dass alle fremden nicht zur normalen Zusammensetzung des Plasma gehörigen Eiweisskörper, welche man in das Blut gelangen lässt, im Harn wieder erscheinen.“ Zugleich konnte Neumeister auch die von Hofmeister[2]) zuerst angegebene „Thatsache bestätigen, dass auch die aus der Magenverdauung hervorgegangenen Peptone sich den nicht direkt assimilierbaren Eiweisskörpern anschliessen, also durch die Nieren entfernt werden, wenn man sie künstlich der Säftemasse einverleibt.“ Er prüfte inbezug hierauf sowohl die durch Einwirkung des Magensaftes, als auch die durch Einwirkung der Pankreasfermente entstehenden Peptone und ausserdem die Albumosen, welche sich „trotz ihres chemischen Verhaltens physiologisch den Peptonen gegenüber gleich verhielten und unter allen Umständen schnell zur Ausscheidung gelangten.“

Die Untersuchungen Neumeisters beziehen sich, soweit sie überhaupt auf Peptone eingehen, auf die wichtigsten Eiweisspeptone. Leimpeptone sind bisher in der gleichen Richtung noch nicht geprüft worden. Die Resorption des Leimes, der ja ein sehr wichtiges Ersatzmittel des Eiweisses bei der Ernährung darstellt, geht nach der allgemein gültigen Ansicht so vor sich, dass er ebenfalls zuvor durch die Verdauungssäfte in Pepton umgewandelt wird. Der Grund davon, dass die Frage nach dem Ersatz des Leimes durch Leimpeptone noch ihrer Erledigung harrte, ist wohl darin zu suchen, dass bisher ein reines chemisches Präparat von Glutinpepton nicht vorhanden war. Nachdem es aber C. Paal gelungen war, aus Gelatine durch Digerieren mit verdünnter Salzsäure ein Leimpepton von einer bis dahin unbekannten Reinheit zu gewinnen, lag es nahe, dieses neue Präparat auf seinen Nährwert und seine sonstigen physiologischen Wirkungen näher zu prüfen.

Im Sommersemester 1892 wurde auf Veranlassung des Herrn Professor Dr. J. Rosenthal und des Herrn Dr. O. Schulz im physiologischen Laboratorium zu Erlangen ein Fütterungsversuch

1) Bunge, Lehrbuch der physiologischen Chemie 1889, p. 311.
2) Zeitschrift für physiologische Chemie V. p. 134.

mit Paal'schem Glutinpepton durchgeführt, welcher zeigen sollte, wie weit bei einem Hunde das Fleischfutter durch dieses Pepton ersetzt werden könne. Nach privaten Mitteilungen des damit beschäftigten Herrn Dr. med. Ganz[1]) ist es vollkommen gelungen, etwa die Hälfte des Fleischeiweisses durch die äquivalente Menge von Glutinpepton zu ersetzen, sodass das Versuchstier während der ganzen Fütterungsperiode im Stickstoffgleichgewicht blieb.

Im Anschluss an diese Untersuchung versuchte ich die Frage nach dem Verhalten des Paal'schen Glutinpeptons bei der direkten Infusion in die Blutbahn zu entscheiden. Die im Verlauf der Arbeit auszuführenden Tierversuche sollten an kräftigen Kaninchen und an kleineren Hunden vorgenommen werden.

Herr Professor Dr. C. Paal hierselbst hatte die Güte, uns das von ihm dargestellte salzsaure Glutinpepton für diese Untersuchungen in grösseren Mengen zur Verfügung zu stellen, wofür ihm auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank auszusprechen mir eine angenehme Pflicht ist.

Das salzsaure Glutinpepton Paal[2]) wird dargestellt durch Erhitzen von reiner Handelsgelatine mit der doppelten Gewichtsmenge 8% Salzsäure. Es ist in absolutem Alkohol vollkommen löslich, und diese Eigenschaft wird zu seiner Abtrennung von den der Handelsgelatine stets anhaftenden anorganischen Salzen und sonstigen Verunreinigungen benutzt. Das von mir verwendete Präparat stammte aus der Fabrik von Kalle & Co., Chemische Fabrik in Biebrich a./Rh., wo es nach der Vorschrift Paal's in grösseren Quantitäten hergestellt wird.

Das salzsaure Glutinpepton stellt bezüglich seiner Zusammensetzung und seiner Eigenschaften ein sehr constantes Präparat dar, bei welchem nur der HCl-Gehalt je nach der Herstellungsweise schwankt. Ich versuchte durch direkte Titration mit $^1/_{10}$ Normalnatronlauge die Salzsäure in meinem Präparat zu bestimmen und erhielt aus mehreren Versuchen folgendes Durchschnittsresultat:

Menge der zur Titration benutzten Peptonlösung: 20 ccm einer 5% alkoholischen Lösung. Diese wurden mit Wasser ver-

---

1) Inaug.-Diss. Erlangen 1893.

2) C. Paal, Ueber die Peptonsalze des Glutins. Berichte der deutsch. chem. Gesellschaft 1892, p. 1202.

dünnt, damit die gelbliche Färbung der Peptonlösung nicht zu sehr die Farbe der als Indicator benutzten Lackmustinctur störte.

Zur Neutralisation waren erforderlich 24 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH.

24 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH entsprechen $\frac{36{,}5 \cdot 24}{10 \cdot 1000} = 0{,}0876$ g HCl.

Es sind also nach der Titration in 1 g salzsaurem Glutinpepton 0,0876 g HCl enthalten. Dieser Wert ist aber viel kleiner als der durch gewichtsanalytische Bestimmung des Chlors gefundene Wert. Der Grund hiervon liegt darin, dass, wie Paal selbst hervorgehoben hat, die Säure so fest an das Pepton gebunden ist, dass sie durch blosses Neutralisieren sich überhaupt nicht vollständig dem Pepton entziehen lässt. Folgender Versuch von Paal zeigt dies aufs Deutlichste: 3 g Peptonsalz mit 10,38 % Salzsäure wurden in Wasser gelöst, die Lösung mit Lackmus rot gefärbt und nun mit $^1/_{10}$ Normalnatronlauge bis zur beginnenden alkalischen Reaction titriert. Es wurden 21,5 ccm Lauge, entsprechend 0,08047 g Salzsäure, verbraucht, während der anderweitig festgestellte Säuregehalt des Salzes 0,3114 betrug. Es war also nur etwas mehr als der vierte Teil der Säure durch Alkali gebunden worden[1]). Das für meine spätern Untersuchungen verwendete Präparat enthielt nach der gewichtsanalytischen Chlorbestimmung 12,3 % HCl.

Den Stickstoffgehalt seiner Peptone hat Paal durch Elementaranalyse bestimmt. Für das salzsaure Pepton gibt er an einer Stelle 15,85 % Stickstoffgehalt an, der sich bei der Umrechnung auf freies Pepton in diesem Falle auf 17,85 % stellt. In einem andern Falle beträgt der N-gehalt eines freien Peptons, bei dem die Salzsäure nach seiner Methode durch Silbersulfat völlig entfernt war, 17,80 %.

Ich habe durchgehends bei den Stickstoffbestimmungen, die ich nach der Methode von Kjeldahl-Argutinsky[2]) ausführte, kleinere Werte erhalten. Zwei derartige Analysen lasse ich hier folgen:

I. Menge des salzsauren Glutinpeptons 1,353 g.

Die in der Vorlage befindlichen 50 ccm Normalschwefelsäure,

1) Paal Loc. cit., p. 1227.

2) Argutinsky: Arch. f. d. ges. Physiologie Bd. 46. p. 581.

in welche das gebildete Ammoniak hinein destillierte, wurden jedesmal mit Wasser auf 500 ccm aufgefüllt, und davon wurden 25 ccm zur Titration verwendet.

Endtiter 18,6 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH, mithin

Titerdifferenz für 25 ccm Destillat = 6,4 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH

„ „ 500 „ „ = 6,4.20 „ „ „ „

Nun entsprechen 6,4.20 ccm $^1/_{10}$ NaOH $\frac{6,4.20.14}{10.1000}$ g N = 0,1792 g N.

Es ist also gefunden

für 1,335 g HCl-Pepton 0,1792 g N, d. h.

„ 1,0 „ „ 0,1371 „ „ .

Wird hieraus der Stickstoffgehalt des freien Peptons berechnet, so findet man — den Säuregehalt des HCl-Salzes zu 12,3 % angenommen — für das säurefreie Präparat 15,63 % N.

II. 1,338 g Peptonsalz.

Es wurden 50 ccm des auf 500 ccm aufgefüllten Destillats titriert.

Endtiter 38,7 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH,

also Titerdifferenz 11,3 „ „ „ und

Titerdifferenz für 500 ccm Destillat = 10.11,3 ccm $^1/_{10}$ NaOH;

dies entspricht $\frac{14.10.11,3}{10.1000}$ = 0,1582 g N.

Es ist also gefunden

für 1,338 g HCl-Pepton 0,1582 g N

„ 1,0 „ „ 0,1182 „ „ und hieraus

„ 1,0 „ freies Pepton 13,47 % N.

Das Paal'sche Pepton hat ausserdem noch einige bemerkenswerte Eigenschaften, welche es von anderen Peptonen unterscheiden. Es ist ein äusserst stark hygroscopisches, aus kleinen Lamellen bestehendes Pulver von nahezu weisser Farbe, das an der Luft nach kurzer Zeit zu einer klebrigen, gummiähnlichen Masse zerfliesst. Von grösstem Interesse ist der Umstand, dass es sich in wasserfreiem Methyl- und Aethylalkohol in jedem Verhältnis und mit Leichtigkeit, ebenso wie in Wasser löst. Die 5 % alkoholische Lösung stellt eine hell gelblich-braune, klare Flüssigkeit dar, aus der sich erst bei längerem Stehen ein geringer flockiger Niederschlag ausscheidet. Beim Neutralisieren dieser stark sauren alkoholischen Lösung mittelst Natronlauge fällt das Pepton teilweise als braune syrupöse Masse aus. Die 5 % wässerige Lösung ist hell gelblich-braun und bleibt bei längerem Stehen

völlig klar; doch siedeln sich nach einiger Zeit ziemlich ausgedehnte Schimmelpilzkulturen darauf an.

Wie Paal angiebt, „wird die wässerige Lösung weder durch Sublimat, noch Ferrocyankalium und Essigsäure, noch von Salpetersäure oder Kochsalz, wohl aber durch Ammonuslfat, wenn auch nicht vollständig, gefällt. Ebenso wie letzteres verhält sich auch Phosphorwolframsäure. Das Salz zeigt ferner die für die Peptone charakteristische Biuretreaction sehr intensiv, dagegen nicht die Adamkiewicz'sche und Millon'sche Reaction."

Bezüglich der hier erwähnten Fällung durch Ammonsulfat, deren Fehlen nach Kühne's Ansicht für die Peptone gerade charakteristisch ist, bemerke ich, dass Paal an einer spätern Stelle seiner Arbeit angiebt, dass diese Eigenschaft nur den säureärmeren Salzen zukomme. Dagegen werden die in Aethylalkohol löslichen, sehr säurereichen Salze, zu denen auch das von Kalle & Co. hergestellte gehört, mit einem Säuregehalt von 12—13 % nicht mehr durch Ammonsulfat aus ihren wässerigen Lösungen gefällt, „dürften also sämtlich als Salze der eigentlichen Peptone nach der Definition Kühne's angesehen werden."

Um ein klares Bild von den Eigenschaften des salzsauren Glutinpeptons zu gewinnen, zog ich zum Vergleich einige Handelspeptone heran, nämlich 1) das Peptonum siccum alcohole praecipitatum Grübler. Es ist ein gelblich weisses Pulver, das sich in Wasser nur langsam löst. Die 5 % wässerige Lösung stellt eine grüngelbliche, trübe Flüssigkeit dar, aus der nach längerem Stehen ein flockiger Niederschlag ausfällt. Die von mir benutzte Lösung wurde filtriert. 2) Das Peptonum siccum e carne Merk; löst sich nur langsam in Wasser. Die 5 % wässerige Lösung ist dunkelbraun, nicht völlig klar. Die benutzte Lösung wurde ebenfalls filtriert.

Diese beiden Peptone sind zu geringem Teil in Alkohol löslich. Es wurde je 1 g des Grübler'schen und des Merk'schen Peptons mit 20 ccm Alkohol (ca. 95 %) übergossen. Dabei blieb das Pepton zum grössten Teil als eine schmierige, braune Masse am Boden des Becherglases haften und löste sich auch nicht beim Erwärmen. Die alkoholische Flüssigkeit wurde abfiltriert, eingedampft und der Rückstand in 10 ccm Wasser gelöst. Diese Lösung zeigt deutliche Biuretreaction und auch sehr deutliche Adamkiewicz'sche Reaction. Mit den 5 % Lösungen dieser

drei Peptone stellte ich nun eine Reihe von vergleichenden Reactionen an, deren Resultat in der nachfolgenden Tabelle verzeichnet ist.

Art der Reaction	Art und Concentration der Lösung		Salzsaures Glutinpepton Paal	Peptonum siccum alcohole praecipit. Grübler	Peptonum siccum e carne Merk
I. Natronlauge + Kupfersulfat (Biuretreaction)	1/2 % wässerige Lösung		Deutliche Rosafärbung	Deutliche Rosafärbung	Deutliche Rosafärbung
II. Millons Reagens	1/2 % wässr. Lösung	Kälte	Keine Trübung Keine Rotfärbung	Trübung, Rotfärbung	Trübung, Rotfärbung
		Erwärmen	Keine Trübung. Nach dem Erkalten geringer weisser Niederschlag, der beim Erwärmen wieder verschwindet	Zusammenballen des Niederschlages	Zusammenballen des Niederschlages
III. Eisessig + conc. Schwefelsäure (Adamkiewicz'sche Reaction)	5 % wässerige Lösung		Kein violetter Ring, geringe Rosafärbung	Deutlicher violetter Ring	Die vorhandene Reaction wird verdeckt durch starke Braunfärbung
IV. Sublimat	5 % wässerige Lösung		Sehr geringe weissliche Trübung, die beim Erhitzen wieder verschwindet	Dicker weisser Niederschlag	Dicker weisser Niederschlag
	5 % alkoholische Lösung		Keine Trübung, auch nichtnachlängermStehen		
	5 % neutralisierte wässerige Lösung		Geringer Niederschlag, der sich beim Erhitzen wieder löst		
V. Gerbsäure 2%	1/2 % wässerige Lösung		Kein Niederschlag	Dicker weisser Niederschlag, der sich bei Zusatz von HCl nicht völlig auflöst	Dicker weisser Niederschlag, der sich auf Zusatz von HCl nicht völlig auflöst
	1/2 % neutralisierte wässerige Lösung		Starker weisser Niederschlag, der sich bei Zusatz von HCl wieder völlig auflöst		
VI. Argentum nitricum	5 % wässerige Lösung		Starker weisser Niederschlag, der sich bei Zusatz von HNO_3 nicht auflöst (Silberchlorid)	Geringe Trübung, die sich durch HNO_3 wieder löst	Sehr geringe Trübung, durch HNO_3 fast völlig wieder gelöst
VII. Phosphorwolframsäure + Salzsäure	1/2 % wässerige Lösung		Dicker weisser Niederschlag, durch Erhitzen aufgelöst	Dicker weisser Niederschlag, durch Erhitzen aufgelöst	Dicker weisser Niederschlag, durch Erhitzen aufgelöst
VIII. Phosphormolybdänsäure	1/2 % wässerige Lösung		Dicker gelblich-weisser Niederschlag, durch Erhitzen aufgelöst	Dicker gelblich-weisser Niederschlag, durch Erhitzen aufgelöst	Dicker gelblich weisser Niederschlag, beim Erhitzen aufgelöst
IX. Kochen mit Salpetersäure (Xanthoproteinsäurereaction)	1/2 % wässerige Lösung		Keine Gelbfärbung	Deutliche Gelbfärbung	Deutliche Gelbfärbung
	1/2 % neutralisierte wässerige Lösung		Sehr geringe Gelbfärbung	Starke Gelbfärbung	Starke Gelbfärbung

Charakteristisch für das Paal'sche salzsaure Glutinpepton ist also

1) deutliche Biuretreaction,
2) Fehlen der Millon'schen Reaction,
3) Fehlen der Adamkiewicz'schen Reaction,
4) Leichte Löslichkeit in absolutem Alkohol.

Bevor ich zu den Tierversuchen überging, suchte ich zuerst festzustellen, ob nicht etwa schon ausserhalb des Tierkörpers das frische Blut irgend eine Einwirkung auf Pepton hätte. Ich führte deshalb mehrere Versuchsreihen durch, bei denen allen eine gewisse Menge Pepton zu einem gewissen Quantum frischen Rinderbluts gesetzt wurde. Nachdem die Proben 0 bis 24 Stunden teils bei gewöhnlicher Zimmertemperatur, teils bei Bluttemperatur im Brütofen gestanden hatten, wurde versucht, in ihnen das Pepton wieder qualitativ und quantitativ nachzuweisen. Bei allen diesen Versuchen handelte es sich darum, das Pepton, das dem Blute zugefügt worden war, aus diesem Eiweissgemisch zurückzugewinnen. Zu diesem Behufe musste stets das Blut von seinem Gesamteiweiss befreit werden. Es liegt auf der Hand, dass von dieser Operation in erster Linie das Gelingen der Analysen abhing.

Ehe ich das von mir angewendete analytische Verfahren bespreche, möchte ich kurz an die gebräuchlichsten Methoden der Enteiweissung des Blutes und ähnlicher eiweissreicher tierischer Flüssigkeiten erinnern, wie sie teils zur Bestimmung des Peptongehaltes, teils des Zucker-, Harnstoff- und Harnsäuregehaltes von verschiedenen Forschern angewendet worden sind.

Es wurde zunächst versucht, durch einfaches Aufkochen der eiweisshaltigen Flüssigkeit das Eiweiss zu coagulieren und durch nachheriges Abfiltrieren zu entfernen. Dabei zeigte sich aber, dass auf diese Weise bei weitem nicht alles Eiweiss entfernt wird, dass vielmehr ein grosser Teil in dem Filtrat gelöst bleibt. Beim Blute ist es vor allem der Blutfarbstoff, der in das Filtrat übergeht, wovon ich mich selbst durch mehrere Versuche überzeugen konnte. Ebenso unzuverlässig ist die Ausfällung der Eiweissstoffe durch reinen Alkohol, eine Methode, deren Unzulänglichkeit schon Alex. Schmidt[1]) nachgewiesen hat. Einige brauchbare Methoden

1) Alex. Schmidt, Pflügers Archiv f. d. ges. Physiologie XIII, p. 108.

giebt Hoppe-Seyler[1]) an: durch einfaches Kochen nach vorsichtigem Zusatz von verdünnter Essigsäure erhält man eine flockige Gerinnung der Eiweisskörper. Durch Prüfung des Filtrats mit Ferrocyankalium kann man sich von der völligen Entfernung der Eiweissstoffe mit Ausnahme der Peptone überzeugen. Ein grosser Mangel dieses Verfahrens, den auch Hoppe-Seyler selbst angiebt, ist der, dass die Albuminstoffe sich in überschüssiger Essigsäure lösen, sodass man also mit dem Zusatz der Säure sehr vorsichtig verfahren muss; ausserdem kann auch durch die hohe Temperatur Zersetzung eintreten.

Dieses Verfahren, nur mit der Modification, dass das Blut vor dem Zusatz von Essigsäure mit dem 3—4 fachen Volumen Wasser verdünnt wurde, — eine schon von Claude Bernard geübte Methode — ist z. B. von v. Jaksch[2]) angewandt worden bei seinen Untersuchungen über den Harnsäuregehalt des Blutes. Er bemerkt dabei bezüglich der Eiweissfällung, „dass das Filtrieren ungemein rasch vor sich geht, ebenso wie bei der Verwendung der Schmidt-Mühlheim'schen Methode für das Blut. Nach dem Aufkochen zeigte sich das Filtrat, nach den bekannten Methoden geprüft, fast stets frei von Eiweiss.“ Bei Gegenwart von Acidalbuminen, Propeptonen, Albuminaten oder Caseinen ist diese Methode unzulässig, und Hoppe-Seyler empfiehlt für diese Fälle zur Ausfällung „1) Zusatz eines Ueberschusses von kaltem Alkohol (mindestens 3 Volumen Alkohol auf 1 Volumen Flüssigkeit) oder 2) vorsichtigen Zusatz von Bleiessig, solange Niederschlag entsteht (der Ueberschuss des Reagens löst mehrere Albuminstoffe leicht wieder auf) oder 3) Eintragen von Chlornatrium oder Magnesiumsulfat zur vollständigen Sättigung.“

Ausserdem giebt Hoppe-Seyler noch zwei andere Methoden an, nämlich zur Entfernung von Acidalbumin oder Casein und Albuminaten eine Lösung von essigsaurem Eisenoxyd der Eiweisslösung hinzuzufügen und solange zu kochen, bis das Eisenoxyd als basisches Salz völlig ausgefällt ist. Doch bemerkt er dabei, dass die Lösung des essigsauren Eisenoxyds nur sehr wenig freie Essigsäure enthalten darf, weil sonst dieselben Schädlichkeiten eintreten, wie oben erwähnt.

1) Hoppe-Seyler, Handbuch der physiol. u. path. chem. Analyse, 5. Auflage, p. 263.

2) Zeitschrift f. Heilkunde XI. 1890, p. 422.

Statt des essigsauren Eisenoxyds hält er zuweilen für zweckmässiger, eine Mischung von Eisenchlorid und überschüssigem Natriumacetat zu verwenden.

Die erstere dieser beiden zuletzt erwähnten Methoden von Hoppe-Seyler wurde vor allem von Schmidt-Mühlheim[1]) angewandt mit der geringen Modification, dass zu dem essigsauren Eisenoxyd noch ein kleines Quantum von schwefelsaurem Eisenoxyd zugefügt wurde. Er erzielte dadurch, „dass einfach gelöste Eiweisskörper aus dem Inhalt des Verdauungsapparates durch blosses Aufkochen mit dieser Eisenlösung vollständig abgeschieden werden können, ohne dass eine nennenswerte Verunreinigung der Eiweissfiltrate durch die zugefügten Reagentien bewirkt wird, und ohne dass eine Einwirkung dieser Substanzen auf Peptone und krystallinische Zersetzungsprodukte erfolgt. Schon einmaliges Aufkochen der mit der Eisenlösung versetzten Flüssigkeit, für deren geringe Concentration stets Sorge getragen werden muss, macht die Lösung vollkommen eiweiss- und eisenfrei.“

Das letzte Hoppe-Seyler'sche Verfahren, Kochen mit Eisenchlorid und Natriumacetat, ist vielfach angewandt worden, namentlich von Hofmeister[2]) zur Entfernung des Eiweisses aus Blut, Eiter und Harn behufs Untersuchung dieser Flüssigkeiten auf Peptone. Der Gang des Verfahrens war z. B. bei den Eiteruntersuchungen folgender:

„Eine abgemessene Menge Eiter wurde mit dem zehnten Teil seines Volumens einer concentrierten Lösung von essigsaurem Natron versetzt und soviel Eisenchlorid hinzugefügt, dass die Flüssigkeit eine blutrote Färbung annahm. Sodann stumpfte man mit Natronlauge bis zur schwach sauren Reaction ab. Die erhaltene Flüssigkeit von dünnbreiiger Consistenz wurde zum Kochen erhitzt, zehn Minuten in lebhaftem Sieden erhalten, nach dem Erkalten filtriert und vom Filtrat ein abgemessener Teil auf dem Wasserbade auf einen geringen Rückstand eingeengt, dann sorgfältig mit wenig Wasser gelöst. Die Lösung wurde zur polarimetrischen Bestimmung des Peptons verwandt.“ „Dass die Ausfällung der Eiweisskörper nach dem erörterten Verfahren keine

1) du Bois, Archiv f. Physiologie 1879.
2) Zeitschrift f. physiologische Chemie IV p. 271.

merklichen Verluste an Pepton zur Folge hat," davon hat sich Hofmeister durch eigene Versuche überzeugt.

Dasselbe Hoppe-Seyler'sche Verfahren wurde auch von Alex. Poehl[1]) benutzt, der die Flüssigkeit nach dem Abstumpfen mit Alkali nur aufkocht und sogar ein länger fortgesetztes Kochen für nachteilig hält, „da in letzterem Falle die Trennung des Niederschlages, der dabei schleimige Consistenz annimmt, verlangsamt wird. Wenn richtig verfahren worden und Natriumacetat und Eisenchlorid in entsprechender Menge zugefügt ist, muss sich der Niederschlag rasch absetzen und die darüberstehende Flüssigkeit vollkommen klar und farblos erscheinen. Man trennt den Niederschlag durch mit Decantation verbundene Filtration und wäscht den Niederschlag, der mechanisch mitgerissene Mengen von Pepton enthält, mit siedendem Wasser aus, dem man etwas essigsaures Natron zugesetzt hat. Im Falle ins Filtrat nachweisbare Mengen von Eisen übergegangen sein sollten, so behandelt man das Filtrat von neuem mit essigsaurem Natron, kocht wieder auf und filtriert ab. Das Filtrat gibt bei Prüfung mit Ferrocyankalium und Essigsäure schliesslich keine Trübung. Durch Verdampfen engt man das Filtrat mit dem Waschwasser ein und bestimmt hierin das Pepton."

Diese ältere Methode von Hoppe-Seyler mit den Modificationen von Hofmeister und Poehl ist vielfach erprobt und als sehr brauchbar gefunden worden.

Zu erwähnen wäre noch das von Hofmeister[2]) angegebene „Verfahren zur völligen Abscheidung des Eiweisses aus tierischen Flüssigkeiten." Es besteht darin, „dass man zunächst die eiweisshaltige Lösung in der gebräuchlichen Weise (NB. eine bestimmte Methode ist nicht angegeben) von der Hauptmenge des Eiweisses befreit und dann das Filtrat mit Bleihydrat versetzt, einige Minuten im Kochen erhält und wieder filtriert. Die erhaltene Flüssigkeit wird durch Einleiten von Schwefelwasserstoff von gelöstem Blei, durch Aufkochen von überschüssigem Schwefelwasserstoff befreit und erweist sich nun auch den empfindlichsten Reagentien gegenüber als eiweissfrei." Bei Flüssigkeiten, welche schwefelsaure oder phosphorsaure Salze in grosser Menge enthalten, em-

1) Inaug.-Diss. Dorpat 1882, p. 33.
2) Zeitschrift f. physiologische Chemie II, p. 288.

pfiehlt Hofmeister „noch einige Tropfen Bleizuckerlösung zuzusetzen. Das Bleioxyd macht nämlich aus den Sulfaten und Phosphaten Alkalien frei, welche, wenn in grösserer Quantität vorhanden, einen, wenn gleich sehr geringen, Anteil des Eiweisses in Form von Albuminat in Lösung erhalten. Zusatz von Bleizucker führt sie in essigsaure Salze über und macht sie so unschädlich.“ Statt des frisch gefällten Bleioxyds hat Hofmeister auch befriedigende Resultate erhalten mit frisch gefälltem kohlensauren Blei- und Zinkoxyd, sowie mit käuflichem reinen Zinkoxyd. Er wandte diese Methode an bei der Untersuchung der Ascitesflüssigkeit, des Blutes, der Milch, des Hühnereiweisses und des Eiters auf ihren Peptongehalt. Auch bei der Untersuchung des Harns[1]) auf Pepton benutzte er sie, um vorher aus dem Harn etwa vorhandenes Eiweiss vollkommen zu entfernen. Später hat er sie aber zu Gunsten der vorher erwähnten Hoppe-Seyler'schen Methode wieder verlassen.

In neuerer Zeit sind ferner zwei Verfahren angegeben worden, auf die ich hier noch eingehen muss.

Devoto hat in seiner Arbeit[2]) „Über den Nachweis des Peptons und eine neue Art der quantitativen Eiweissbestimmung“ die Enteiweissung tierischer Flüssigkeiten folgendermassen ausgeführt: „Man versetzt die betreffende eiweisshaltige Flüssigkeit in einem Becherglas auf 100 ccm mit 80 g krystallisierten Ammonsulfats — das ist soviel Salz, als die Flüssigkeit zur Sättigung in der Kälte braucht — und bringt zunächst das Salz in der Wärme (in einem Wasserbade) unter Rühren und Zerdrücken der Krystalle mit einem Glasstab zur völligen Lösung. Dazu sind 10—15 Minuten erforderlich. Alsdann setzt man das Glas 30—40 Minuten dem Dampf siedenden Wassers aus, worauf die Coagulation vollendet ist. Lässt man das Glas noch länger, bis zwei Stunden, im Dampfe verweilen, so wird das Coagulum dichter und das Filtrieren und Auswaschen gehen schneller von statten.“ Wichtig für das Verfahren ist, dass das Gelingen der vollständigen Coagulation unabhängig von der Reaction der Eiweisslösung ist. Dieses Verfahren stellt sich als so einfach dar, dass es die übrigen Methoden zu verdrängen bestimmt wäre, wenn es sich bewähren

1) Zeitschrift f. physiologische Chemie IV, p. 263.
2) Zeitschrift f. physiologische Chemie XV p. 465.

sollte. Devoto gibt aber selbst an, dass es für die Enteiweissung des Blutes nicht sicher zu verwerten ist. „Bei der Coagulation des Blutes nach dieser Methode erhält man leicht gefärbte Filtrate, weil das Hämoglobin nicht vollständig coaguliert wird. Doch lässt sich dieses Verfahren auch bei einiger Vorsicht auf den Nachweis von Pepton in bluthaltigen Flüssigkeiten anwenden. Ist nämlich Pepton zugegen, so geht dieses beim Auswaschen des Niederschlages früher in Lösung als der nicht coagulierte Teil des Blutfarbstoffes, und die ersten Filtrate pflegen dann mit Ferrocyankalium und Essigsäure, keine Reaction, aber eine deutliche Biuretfärbung zu geben.“ Auch die Versuche, welche v. Jaksch[1]) mit dieser Methode anstellte, um Pepton im Blut von Leukämischen nachzuweisen, können sie nicht absolut zuverlässig erscheinen lassen. Denn in einem Falle konnte er mit der Hofmeister'schen Methode grosse Mengen von Pepton auffinden, dagegen mit der Devoto'schen nicht. In einem andern Falle dagegen gelang der Nachweis des Peptons mit beiden Methoden gleich gut. „Auch bei der Anwendung beider Methoden auf den Peptonnachweis in den Organen (Leber, Milz) Leukämischer lieferten beide wesentlich differente Resultate. Die Hofmeister'sche Methode zeigte in vielen Fällen Pepton an, in welchen Devoto's Methode kein positives Resultat ergab.“ Devoto selbst gibt auch an einer andern Stelle an, dass es ihm nicht gelang, im Blute Leukämischer mit seiner Methode Pepton nachzuweisen.

Bevor also diese Methode allgemein anerkannt werden kann, bedarf es noch weiterer Nachprüfung bezüglich ihrer Brauchbarkeit[2]).

Die letzte hier noch anzuführende Methode ist das von Abeles[3]) angegebene „Verfahren zur Enteiweissung des Blutes für die Zuckerbestimmung“ mittelst einer alkoholischen Lösung von Zinkacetat.

---

1) Zeitschrift f. physiologische Chemie XVI p. 243.

2) In neuester Zeit hat Robitschek bei einem Fall von Phosphorvergiftung in gleich exacter Weise sowohl nach der Methode Hofmeister's als auch Devoto's Pepton im Harn nachweisen können. (Deutsch. med. Wochenschrift 1893, No. 24.)

3) Zeitschrift f. physiologische Chemie XV p. 495.

Zur Enteiweissung eines gewissen Blutquantums nimmt man nach seiner Vorschrift von absolutem Alkohol das gleiche Volumen, von etwa 95% etwas mehr und setzt 5% vom Gewicht des Blutes an Zinkacetat hinzu, sodass auf 1 g Blut stets 0,05 g Zinkacetat kommen. Diese alkoholische Zinklösung stellt eine trübe Flüssigkeit dar, die aber unfiltriert verwandt wird. „Das Blut wird bei dem Contacte mit Alkohol im ersten Augenblick hellrot, nimmt aber schon nach wenigen Minuten eine dunkelbraune bis schwarzbraune Färbung an. Die Coagulation und die Aufschliessung der Blutkörperchen ist erst dann als vollkommen anzusehen, wenn der Niederschlag eine gleichmässig schwarzgraue Masse bildet, in der sich keine roten Blutkörperchen finden.“ Dann wird durch ein mit Alkohol angefeuchtetes Filter filtriert, mit Alkohol nachgewaschen und der Filterrückstand mit der Handpresse ausgepresst und dann nochmals mit Alkohol in einer Reibschale zu einem dünnen Brei angerührt. Das Filtrat hiervon wird mit dem ersten vereinigt. Beide sind meistens etwas trüb. Das Zink, das bei der Titration auf Zucker störend ist, fällt Abeles mit kohlensaurem Natron aus, filtriert nochmals und erhält jetzt völlig klare, farblose Filtrate.

Ohne diese Arbeit von Abeles näher zu kennen und vor allem ohne zu wissen, dass er statt des Zinkacetats auch schon Chlorzink angewendet hatte, suchte ich nach dem unbefriedigenden Resultat der Seite 10 erwähnten Kochversuche die Enteiweissung des Blutes ebenfalls mit einer alkoholischen Chlorzinklösung zu erreichen. Nach mehrfachen Vorversuchen erwies sich mir folgender Gang der Operation als zweckmässig: Das betreffende Blutquantum wurde unter allmählichem Zusatz des gleichen Volumens 1,5% alkoholischer Chlorzinklösung, welche, wie die Devoto'sche Zinkacetatlösung, stets etwas durch flockige Ausscheidungen getrübt war, in einem Schüttelgefäss stark geschüttelt. Dabei gerann das Eiweiss in ganz kleinen Partikelchen, sodass die ganze Masse völlig dünnflüssig blieb. Die rote Farbe des Blutes wandelte sich in eine dunkelgraubraune um. Von diesem Coagulum wurde die Flüssigkeit an der Wasserstrahlpumpe abgesogen. Das Filtrat stellte eine völlig wasserklare Flüssigkeit ohne jede Spur von Färbung dar. Der Filterrückstand wurde noch einmal in einem grossen Mörser mit Wasser zu einem dünnen Brei tüchtig durchgerührt zur Lösung von etwaigen durch das Coagulum

vorher zurückgehaltenen Peptonmengen, und die ganze Masse wiederum an der Wasserstrahlpumpe filtriert. Beide Filtrate wurden zusammen gegeben und auf dem Wasserbade zu einem mässigen Volumen eingedampft. Dabei schied sich noch eine geringe Menge dunkelbrauner Flocken ab, die durch das Filter hindurchgegangen waren. Dieselben wurden abfiltriert, und nun stellte das Filtrat eine hellgelbliche klare Flüssigkeit dar. Letztere wurde behufs Bestimmung der darin enthaltenen Peptonmenge der weiteren Bearbeitung unterworfen, wie im Folgenden angegeben ist.

Es könnte vielleicht eingeworfen werden, dass durch die zweite Extraction des Filterrückstandes mit Wasser irgendwelche Eiweisskörper aus dem Coagulum, vor allem Albumosen, wieder in Lösung übergeführt worden seien. Um die Berechtigung dieses Einwandes zu prüfen, stellte ich folgende Versuche an: Ich coagulierte mehrere Blutproben von je 100 ccm nach dem obigen Verfahren und verteilte den Filterrückstand in Wasser. Dieser wurde dann entweder sofort wieder aufs Filter geworfen oder erst, nachdem er mit dem Wasser mehrere Stunden (bis zu 19 Stunden) gestanden hatte. Die wässerigen Extracte erschienen stets fast vollkommen wasserklar. Beim Einengen schieden sich jedoch kleine Mengen weisslicher Flocken aus. Diese Flocken bestanden aus zusammengeballten äusserst feinen Eiweisspartikeln, die das Filter passiert hatten. Trotz mehrfacher Filtration gelang es niemals, die Extracte vor dem Eindampfen von diesen fein verteilten Eiweisspartikeln zu befreien.

Alle wässerigen Extracte zeigten mit einer gesättigten Lösung von Ammonsulfat versetzt niemals eine Fällung; beim Kochen mit Salpetersäure ergaben sie eine äusserst schwache Gelbfärbung, welche nur so minimale Spuren von Eiweissstoffen anzeigte, wie sie bei den Stickstoffbestimmungen vernachlässigt werden durften.

In einem letzten Versuch versetzte ich 300 ccm Blut mit 25 ccm einer 5 % wässerigen Lösung von dem albumosenhaltigen Peptonum siccum alcohole praecipitatum Grübler und brachte die Mischung in der gewöhnlichen Weise zur Coagulation. Der Filterrückstand wurde mit 300 ccm Wasser tüchtig durchgerieben und sofort aufs Filter geworfen. Das alkoholische Extract ergab, nach Verjagung des Alkohols mit Ammonsulfatlösung versetzt, eine deutliche Fällung, die aber im Vergleich zu der Ammonsulfatfällung in einer wässerigen Lösung desselben Peptons von

gleicher Concentration bedeutend schwächer war. Es können also in das alkoholische Extract geringe Mengen der durch Ammonsulfat fällbaren Verunreinigungen käuflicher Peptonpräparate übergehen. — Das wässerige Extract zeigte, nachdem es auf ein kleines Volum eingedampft und von geringen Mengen weisslicher Flocken durch Filtration befreit war, auf Zusatz von gesättigter Ammonsulfatlösung keine Fällung. Natürlich ergaben beide Extracte sowohl deutliche Biuretfärbung als auch starke Xanthoproteinsäurereaction.

Nachdem ich so eine Methode der Enteiweissung gefunden hatte, welche so einfach in der Ausführung wie keine der vorher beschriebenen und doch absolut zuverlässig ist, wie durch zahlreiche Proben festgestellt wurde, ging ich zu meiner eigentlichen Arbeit über. Zunächst suchte ich zu ermitteln, indem ich gleichzeitig das beschriebene Enteiweissungsverfahren auf seine Zuverlässigkeit und Genauigkeit erprobte, wie sich Glutinpepton verhält, das in bestimmter Menge einem gewissen Quantum frischen Rinderbluts zugefügt ist. Von Schmidt-Mühlheim ist schon angegeben worden, dass er ausserhalb des Tierkörpers keinen Einfluss des frischen Blutes auf direkt zugefügtes Pepton constatieren konnte. Dies musste ihm um so rätselhafter erscheinen, als nach seiner Annahme das Blut im lebenden Körper die Eigenschaft besitzen sollte, Peptone in Eiweisskörper zu regenerieren. Dass diese Annahme für die bekanntesten Eiweisspeptone nicht zutrifft, haben die Untersuchungen Hofmeister's schon längst nachgewiesen. Über die Einwirkung des Schmidt-Mühlheim'schen hypothetischen Blutferments auf Leimpeptone liegen bisher keine Beobachtungen vor. Mein Bestreben war es daher, festzustellen, ob frisches Blut das Paal'sche Glutinpepton zu verändern imstande sei. Falls das Pepton unangetastet blieb, so musste es sich quantitativ aus der Blutmischung wiedergewinnen lassen.

Der quantitative Nachweis der Peptone ist in der ganzen Peptonchemie eine der schwierigsten Aufgaben. Vielfach ist versucht worden, zuerst aus den eiweissfreien Lösungen die Peptone zu isolieren und dann erst auf irgend eine Weise quantitativ zu bestimmen. Diese Methoden sind alle als nicht sehr zuverlässig zu betrachten, da es kein Fällungsmittel gibt, durch das mit absoluter Sicherheit die ganze in einer Flüssigkeit gelöste Peptonmenge niedergeschlagen wird.

Fast sämtliche Fällungsmethoden geben nur befriedigende Resultate bei einigermassen concentrierten Peptonlösungen, bei sehr verdünnten Lösungen — und solche dürften wohl meistens bei Untersuchungen auf diesem Gebiete in Betracht kommen — versagen sie.

Die Fällung mit absolutem Alkohol [1]) und mit Äther ist nicht exact. Durch Gerbsäure werden die Peptone nur in neutraler oder schwach saurer Lösung niedergeschlagen. Hofmeister [2]) hat die Gerbsäure mehrfach angewendet: „Der durch Gerbsäure erhaltene Niederschlag wird nach 24 Stunden auf dem Filter gesammelt und mit Wasser, dem etwas Gerbsäure und Magnesiumsulfat zugesetzt ist, ausgewaschen. Der Tanninniederschlag wird in einer Schale mit gesättigtem Barytwasser gut zusammengerührt und damit nach Zusatz eines Stückes festen Barythydrats zum Kochen erhitzt. Nach kurzem Kochen filtriert man heiss. Das Filtrat muss farblos und gerbsäurefrei sein. Man entfernt jetzt den überschüssigen Baryt vorsichtig mit Schwefelsäure und engt ein.“

Ebenso wandte Hofmeister [3]) die Fällung mit Phosphorwolframsäure an, welche nach seinen Erfahrungen so genau sein soll, dass man noch 0,1 g Pepton aus einem Liter Harn wiedergewinnen kann. Schmidt-Mühlheim [4]) bemerkt inbetreff dieser Fällungsmethode: „Will man das Pepton vollständig ausfällen, so ist es erforderlich, dass die Einwirkung der Phosphorwolframsäure nicht auf gar zu verdünnte Lösungen erfolgt. Während nämlich aus concentrierten Peptonlösungen die Phosphorwolframsäure allein alles Pepton abzuscheiden vermag, gelingt dieses in schwächeren Lösungen nur nach vorherigem Ansäuern mit Salzsäure; sehr verdünnte Lösungen aber sind selbst unter diesen Umständen nicht völlig peptonfrei zu bekommen.“ Wenn nun diese Fällungsmethoden allein schon nicht zuverlässig sind, so vergrössert sich der schliessliche Fehler noch beträchtlich, falls die quantitative Bestimmung der Peptone in den Lösungen, in welche die aus den Tannin- bezw. Phosphorwolframsäure-Niederschlägen er-

1) Mialhe, Jahresberichte d. Fortschr. d. Pharmacie VII, 1846.
2) Zeitschrift f. physiol. Chemie IV, p. 259.
3) Zeitschrift f. physiol. Chemie IV, p. 260.
4) du Bois, Archiv f. Physiologie 1879, p. 42.

haltenen Peptone übergeführt worden sind, nach der colorimetrischen Methode geschieht. Das colorimetrische Verfahren zur Peptonbestimmung gründet sich auf die den Peptonen eigentümliche Biuretreaction und ist nur anzuwenden auf Flüssigkeiten, welche nicht gefärbt erscheinen; also verbietet sich z. B. ihre direkte Anwendung auf die Peptonbestimmung im Harn schon von selbst. Es ist freilich versucht worden, für diesen Zweck die Harnfarbstoffe zu entfernen. Doch gehen durch die Mittel, welche hierzu verwandt werden, stets auch gewisse Peptonmengen verloren. Bei der Tierkohle, dem gebräuchlichsten Entfärbungsmittel, ist der Verlust an Pepton so gross, dass Schmidt-Mühlheim, welcher stets vor Anstellung der Biuretreaction den Harn damit entfärbte, der Peptongehalt des Harnes bei seinen Tierversuchen vollkommen entgangen ist. So ist es erklärlich, dass er zu der falschen Ansicht von der peptonumwandelnden Kraft des lebenden Blutes kam. Durch Bleizuckerlösung, welche Schulze und Barbieri[1]) zuerst zur Entfärbung empfahlen, werden ebenfalls geringe Mengen von Pepton niedergerissen.

Die colorimetrische Methode, aus der Intensität der Biuretreaction auf den Peptongehalt der Lösung zu schliessen, ist vor allem von Schmidt-Mühlheim und Hofmeister ausgebildet worden. Der erstere[2]) bereitete sich eine Vergleichslösung auf folgende Weise: „Eine gewogene Portion Pepton wird in Wasser gelöst, mit Natronlauge und so lange mit Kupfersulfat versetzt, bis die anfängliche weinrote Farbe eben erkennbar ins Blaue zu schimmern beginnt. Dann wird das Gemenge durch Wasserzusatz soweit verdünnt, dass 3000 ccm Flüssigkeit 1 g Pepton enthalten. Bei der Peptonbestimmung wird dann die zu untersuchende Flüssigkeit in ähnlicher Weise behandelt, bis zur gleichen Farbenintensität verdünnt und aus dem Volumen die Menge berechnet.“ Hofmeister's[3]) Verfahren weicht hiervon etwas ab: „Durch Kupfersulfat- und Natronlaugezusatz zu Peptonlösungen von genau bekanntem Gehalt wird eine Art Farbenscala hergestellt, mit der die auf Pepton zu untersuchende Flüssigkeit nach Zusatz von Kupfervitriol und Natronlauge auf ihre Färbung in gleich dicken

1) Chem. Centralblatt 1881, p. 714.
2) du Bois, Archiv f. Physiologie 1880, p. 33.
3) Zeitschrift f. physiol. Chemie IV, p. 272 u. V, p. 134.

Schichten verglichen werden. Leider ändert die Scala beim Stehen allmählich ihren Farbenton.“

Beide Forscher geben an, dass sie mit ihren Methoden nach längerer Übung, welche zur Unterscheidung von so geringen Farbenabstufungen nötig ist, sehr gute Resultate erzielt haben. Immerhin ist das Verfahren ziemlich schwierig zu erlernen und auch zu sehr abhängig von dem subjektiven Urteil des Untersuchers. Hoppe-Seyler[1]) sagt davon: „Die Biuretreaction zur quantitativen Bestimmung zu verwenden, ist mehrfach versucht; diese Methode ist durchaus zu verwerfen.“

Die polarimetrische quantitative Bestimmung der Peptone, die bekanntlich optisch aktiv sind, wurde auch von Hofmeister angewandt. Er benutzte dazu teils die Filtrate der enteiweissten Lösungen direkt, teils fällte er hieraus erst die Peptone, wie schon oben angegeben, mit Phosphorwolframsäure aus, löste sie in Wasser wieder auf und bestimmte erst in diesen Lösungen den Peptongehalt polarimetrisch. Derartige Bestimmungen können aber nicht eher einwandsfreie Ergebnisse liefern, als nicht die specifische Drehung der einzelnen Peptone genau ermittelt ist. Vorläufig steht nur soviel fest, dass die verschiedenen Peptone verschieden drehende Kraft haben.

Da mir keine der angeführten Methoden zuverlässig genug erschien, so hielt ich es für geboten, ein exacteres Verfahren noch zu Hilfe zu nehmen, nämlich den Peptongehalt der eiweissfreien Blutextracte aus ihrem Stickstoffgehalt zu ermitteln. Dies versprach gute Resultate, da ich jederzeit imstande war, durch Controllversuche den Stickstoffgehalt meines Präparates zu prüfen. Dabei war natürlich noch zu beachten, dass ein Extract aus einem Blutcoagulum von vornherein stickstoffhaltige Verbindungen (Harnstoff, Kreatinin u. a.) enthält. Dieser ursprüngliche Stickstoffgehalt des Blutextractes war daher bei den Stickstoffbestimmungen in Extracten von peptonhaltigem Blut in Anrechnung zu bringen. Ich lasse jetzt die Ergebnisse meiner Untersuchungen über das Verhalten des Peptons im frischen Blute ausserhalb des Tierkörpers folgen.

Für den qualitativen Nachweis konnte in jedem Falle die

---

1) Sein Handbuch 5. Aufl., p. 392.

Biuretprobe als entscheidend gelten, zur quantitativen Bestimmung bediente ich mich folgender drei Methoden:

1) Colorimetrische Bestimmung mittelst der Biuretreaction, welche bei vergleichender Beobachtung der Farbenintensität unter gleichen Bedingungen immerhin Unterschiede im Peptongehalt zu erkennen gestattet.

2) Direkte Zurückgewinnung des Peptons und Bestimmung desselben durch Wägen.

3) Berechnung des Peptons aus dem nach Kjeldahl gefundenen Stickstoffgehalt.

1. Versuchsreihe.

In 8 Reagensgläsern werden je 12 ccm frisches Rinderblut mit je 3 ccm 5% wässeriger Lösung des salzsauren Glutinpeptons versetzt. Die Mischungen bleiben bei Zimmertemperatur verschieden lange Zeit stehen und werden dann aufgearbeitet und zwar No. 1 sofort nach dem Zusammengeben, No. 2 nach $^1/_4$ Stunde, No. 3 nach $^1/_2$ Stunde, No. 4 nach 1 Stunde, No. 5 nach 2, No. 6 nach 4, No. 7 nach 18 und No. 8 nach 24 Stunden. Nachdem sie alle in der gleichen Weise nach der oben angegebenen Methode von dem Eiweiss befreit sind und aus den alkoholischen Extracten der Blutcoagula das Chlorzink mittelst Natriumcarbonat ausgefällt ist, werden stets gleiche Quanta der wasserklaren Flüssigkeiten mit gleichen Mengen Natronlauge und Kupfersulfat versetzt.

Dabei zeigt sich in allen Proben deutliche Biuretreaction. Es scheint aber, dass in den letzten (No. 7 und 8) die Rosafärbung schwächer ist, als in den ersten Proben, doch ist der Unterschied nicht so prägnant, um mit Sicherheit eine Abnahme des Peptongehaltes erkennen zu lassen.

2. Versuchsreihe.

Während bei der ersten Versuchsreihe das salzsaure Glutinpepton verwendet wurde, kam bei dieser und den nun folgenden eine mittelst Natronlauge fast vollkommen neutralisierte Lösung desselben Peptons in Anwendung. Ich neutralisierte die Peptonlösung deshalb, weil es andernfalls möglich gewesen wäre, dass infolge der Anwesenheit von Salzsäure aus dem Eiweiss des Blutes

Pepton resp. peptonähnliche Körper entstehen konnten, zumal bei der jetzt angewandten erhöhten Temperatur.

Es wurden also in 10 Reagensgläsern je 12 ccm Blut mit 3 ccm 5% fast neutraler wässeriger Peptonlösung versetzt und bei einer Temperatur von 30°—35° C. im Brütofen verschieden lange Zeiträume stehen gelassen. No. 1 wurde sofort nach dem Zusammengeben der Peptonlösung und des Blutes, die beide auf eine Temperatur von 35° C. gebracht waren, aufgearbeitet, No. 2 nach $^1/_4$ Stunde, No. 3 nach $^1/_2$ Stunde, No. 4 nach 1 Stunde, No. 5 nach 2 Stunden, No. 6 nach 4, No. 7 nach 18, No. 8 nach 20, No. 9 nach 24 Stunden. No. 10 enthielt Blut, das erst, nachdem es 24 Stunden bei 35° C. gestanden hatte, mit Pepton versetzt worden war.

Die Reihe zeigte bei der gleichen Prüfungsmethode wie bei der vorigen folgendes Resultat: Die Biuretreaction ist in allen 10 Proben deutlich vorhanden. In den Proben 1—6 ist fast gar kein Unterschied; in den Proben 7–9 scheint die Rosafärbung etwas mehr ins Bläuliche überzugehen. Aber diese Verfärbung ist zu wenig hervorstechend, als dass sie für eine Abnahme des Peptongehaltes sprechen könnte. In Probe 10 fällt die Reaktion nicht stärker aus als in den übrigen.

3. Versuchsreihe.

Die Anwendung der Biuretreaction in den beiden ersten Versuchsreihen hatte so viel erkennen lassen, dass eine erhebliche Abnahme des Glutinpeptons durch die Einwirkung frischen Blutes jedenfalls nicht herbeigeführt wird. Da ich aber das colorimetrische Verfahren doch nicht für geeignet hielt, um mein Urteil darauf zu gründen, so versuchte ich nunmehr das zu einer gewissen Menge von Blut zugefügte Pepton wieder zu gewinnen und durch direkte Wägung eine ev. Abnahme desselben zu bestimmen.

Zu diesem Zwecke wurden 6 kleine Kolben mit je 100 ccm frischen Bluts und 10 ccm der 5% wässerigen, fast neutralen Peptonlösung beschickt, sodass also auf 100 ccm Blut immer 0,5 g Pepton kamen. Die Kolben blieben wiederum bei einer Temperatur von 35° C. im Brütofen verschieden lange Zeit stehen und wurden dann aufgearbeitet, und zwar No. 1 nach 5 Stunden, No. 2 nach 7, No. 3 nach 15, No. 4 nach 18, No. 5 nach 22 und No. 6 nach 24 Stunden.

Eine kürzere Dauer der Einwirkung als 5 Stunden wählte ich bei dieser Versuchsreihe nicht, weil, wenn überhaupt eine Abnahme des Peptongehaltes eintritt, diese nach längerer Zeit erst recht zu bemerken sein musste.

Alle 6 Portionen wurden in der gleichen Weise nach derselben Methode wie früher coaguliert, filtriert, der Filterrückstand mit Wasser tüchtig durchgerieben und nochmals abfiltriert. Die beiden wasserklaren Filtrate wurden zusammengegeben, eingedampft auf ungefähr 30 ccm und dann von geringen Mengen ausgeschiedener Flocken abfiltriert. Das Filtrat wurde nach Ausfällung des Zinks mittelst Natriumcarbonat völlig eingedampft und der gelblich-bräunliche, schmierige Rückstand zur Lösung des Peptons mit Alkohol extrahiert [1]). Das alkoholische Extract wurde auf einem Uhrglase bis zur Trockne eingedunstet, im Luftbade bei 105° völlig getrocknet und dann gewogen.

No.	Das Peptonblut stand im Brütofen	Gewicht des Peptonrückstandes
I	5 Stunden	0,793 g
II	7 „	1,030 „
III	15 „	0,943 „
IV	18 „	0,876 „
V	22 „	0,997 „
VI	24 „	1,909 „

Aus diesen Resultaten ergibt sich, dass in allen Fällen bedeutend mehr als 0,5 g d. i. die Menge des ursprünglich zugefügten Peptons gefunden wurde. Es mussten also ausser dem Pepton noch andere Substanzen in das alkoholische Extract über-

1) Es wurde hier leider versäumt, den Rückstand vor der Extraction mit Alkohol erst mit conc. Salzsäure anzufeuchten. Wenn ein Teil des Peptonchlorhydrats durch die Behandlung des Filtrats mit Natriumcarbonat in freies Pepton übergeführt war, so konnte diese Menge freien Peptons nicht in das alkoholische Extract des Rückstandes übergehen. Das Peptonchlorhydrat wird zwar durch Natriumcarbonat keineswegs glatt gespalten, bleibt aber auch nicht intact.

gegangen sein, vor allem also die alkohollöslichen Extractivstoffe des Blutes noch nicht ausgefällte Mengen von Chlorzink u. s. w.

Zur Beseitigung der Verunreinigungen wurde jeder gewogene Peptonrückstand von dem Uhrglase mit Wasser abgespült, die Lösung zur Fällung des Zinkchlorids noch einmal mit Natriumcarbonat versetzt, alsdann filtriert und das klare Filtrat zur Trockne gebracht. Der Rückstand wurde mit einigen Tropfen Salzsäure betupft zur Überführung des freien Peptons in salzsaures Salz, das ja in Alkohol leicht löslich ist. Beim Übergiessen mit HCl färbten sich die Proben No. 1, 2 und 5 dunkelbraunrot. Alle wurden darauf nochmals eingetrocknet und dann mit Alkohol extrahiert. Dabei löste sich von der trocknen Masse nur äusserst wenig. Sie wurde gründlich mit dem Glasstab durchgerieben und der Alkohol abfiltriert. Die Filtrate waren wasserhell, bis auf die von den Proben No. 1, 2 und 5. Die alkoholischen Extracte der Proben No. 3, 4 und 6 zeigten schwache, aber deutliche Biuretreaction und keinen Unterschied inbetreff der Intensität derselben, während bei den dunkelbraunroten alkoholischen Extracten der Proben No. 1, 2 und 5 die ebenfalls vorhandene schwache Biuretreaction durch die dunkle Färbung der Flüssigkeit beeinträchtigt wurde. Es enthielten also alle 6 Portionen Pepton.

Die nach der letzten Extraction mit Alkohol zurückgebliebenen Reste lösten sich leicht in Wasser und zeigten, wie bei einigen dieser Reste nachgewiesen wurde, deutliche und starke Biuretreaction: es ist also bei der geschilderten Aufarbeitung nicht alles Pepton in das alkoholische Extract übergegangen.

Dem entsprechen auch die Resultate der Wägungen, welche mit den völlig eingedampften und getrockneten Rückständen der alkoholischen Extracte vorgenommen wurden.

No.	Das Peptonblut stand im Brütofen	Gewicht des Peptonrückstandes
I	5 Stunden	0,195 g
II	7 „	0,121 „
III	15 „	0,053 „
IV	18 „	0,067 „
V	22 „	0,196 „
VI	24 „	0,148 „

Es ergibt sich aus diesen Werten, welche in keinem Falle nicht einmal $^2/_5$ der zugeführten Peptonmenge betragen, dass das Pepton durch Alkohol nicht zuverlässig aus dem Rückstande eines Blutextractes wieder gewonnen werden kann. Ferner aber lässt sich aus ihnen das schliessen, dass eine mit der Dauer der Einwirkung des Blutes auf Pepton regelmässig fortschreitende Abnahme der Peptonmenge, wenigstens für eine 5—24stündige Einwirkungsdauer, nicht eintritt.

4. Versuchsreihe.

Da auch die in der vorhergehenden Versuchsreihe unternommene quantitative Bestimmung des Peptons durch direkte Wägung der zurückgewonnenen Menge nicht zu einem befriedigenden Resultate geführt hatte, so wurde zu einer Methode übergegangen, welche zuverlässige Resultate versprach, nämlich zur Berechnung des Peptongehalts des eiweissfreien alkoholischen Extractes aus seinem — nach Kjeldahl bestimmten — Stickstoffgehalt.

Es wurden gleichzeitig 6 Kolben mit je 300 ccm frischen Rinderbluts beschickt und mit 20 ccm 5% neutralisierter wässeriger Peptonlösung versetzt, so dass also auf 300 ccm Blut 1 g Pepton kam. Diese Kolben blieben wieder verschieden lange Zeit bei 35° C. im Brütofen stehen und wurden dann in der gleichen Weise wie früher aufgearbeitet, und zwar No. 1 sofort nach dem Zusammengeben des Blutes und der Peptonlösung, No. 2 nach 4 Stunden, No. 3 nach 6, No. 4 nach 12, No. 5 nach 18, No. 6 nach 24 Stunden. Ferner wurden 3 Kolben mit je 300 ccm Blut ohne Zusatz von Pepton in der gleichen Weise aufgearbeitet zur Bestimmung des Stickstoffgehaltes des alkoholischen Extractes der gleichen — peptonfreien — Blutmenge bei derselben Methode der Enteiweissung. Der hierbei erhaltene Stickstoff musste dann von dem Stickstoff der Peptonblutextracte abgezogen werden. Die Enteiweissung geschah bei allen Proben in der gleichen Weise nach der obigen Methode. Eine Ausfällung des Chlorzinks aus den erhaltenen Filtraten wurde unterlassen, da die Anwesenheit desselben in keiner Weise die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl beeinflussen konnte. Bei der Untersuchung der Filtrate auf Eiweiss durch Zusatz von Essigsäure und Ferrocyankalium zeigte sich ein dicker Niederschlag, der zuerst als Eiweiss imponierte, aber sich bei näherer Prüfung als Ferrocyanzink herausstellte.

Bei Zusatz von Sublimat wurde kein Niederschlag resp. Trübung erhalten. Auch andere Eiweissproben gaben ein negatives Resultat.

Alsdann wurden die Filtrate völlig eingedampft, die Rückstände mit 1—2 ccm concentrierter HCl übergossen, mit 25—30 ccm Alkohol verrieben und auf ein kleines Filter gebracht. Die Filterrückstände wurden mit Alkohol so lange ausgewaschen, bis sie ein völlig weisses Pulver darstellten. Die klaren Filtrate wurden nunmehr auf wenige Kubikcentimeter eingeengt, mit concentrierter Phosphorschwefelsäure [1]) aufgenommen und nach der Methode von Kjeldahl-Argutinsky weiter verarbeitet. Bei allen Stickstoffbestimmungen wurde das Ammoniak in 50 ccm Normalschwefelsäure geleitet. Diese wurden auf 500 ccm mittelst Wasser aufgefüllt und davon stets 25 ccm mit $^1/_{10}$ Normalnatronlauge titriert.

Bestimmung des N-Gehaltes in den Blutproben ohne Peptonzusatz.

Es wurden 3 Bestimmungen gemacht und jedesmal je 300 ccm Blut verwandt. Die Aufarbeitung geschah stets in der gleichen Weise wie früher. Der Endtiter betrug bei allen 3 Bestimmungen gleichmässig 23,2 ccm $^1/_{10}$ Normalnatronlauge.

Titrierte Menge	25,0 ccm
Endtiter	23,2 „
Titerdifferenz für 25 ccm	1,8 „
„ „ 500 „	= 20 . 1,8 „

1,8 . 20 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH entsprechen $\frac{14 \cdot 1{,}8 \cdot 20}{10 \cdot 1000} = 0{,}0504$ g N.

Es sind also bei allen Blutproben mit Peptonzusatz stets von den erhaltenen Stickstoffmengen 0,0504 g N als Stickstoffgehalt der Extractivstoffe von 300 ccm Blut in Abzug zu bringen, resp. die hier erhaltene Titerdifferenz von 1,8 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH für 25 ccm des auf $^1/_2$ Liter aufgefüllten Destillats ist gleich zu

---

1) Argutinsky hat für Kjeldahl'sche Stickstoffbestimmungen zur Zersetzung der stickstoffhaltigen organischen Substanz eine Schwefelsäure empfohlen, welche auf 1 Liter reiner englischen H_2SO_4 200 g P_2O_5 enthält. cfr. Pflüger's Archiv XLVI, p. 581.

subtrahieren von der Titerdifferenz, die bei einer Peptonblutprobe für 25 ccm des auf $^1/_2$ Liter aufgefüllten Destillats gefunden wird.

Im Folgenden ist diese Titerdifferenz von 1,8 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH stets als „Blutdifferenz“ bezeichnet.

Bestimmung des N-Gehaltes in den Blutproben mit Peptonzusatz.

Die verwandte Blutmenge betrug stets 300 ccm.
„ „ Peptonmenge betrug stets 1 g.

No. I.

Pepton-Blutmischung im Brütofen 0 Stunden

Titrierte Menge	25,0 ccm
— Endtiter	18,7 „
	6,3 „
— Blutdifferenz	1,8 „
Titerdifferenz für 25 ccm	4,5 „
„ „ 500 „	4,5 . 20 ccm

4,5 . 20 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH entsprechen $\frac{14 \cdot 4{,}5 \cdot 20}{10 \cdot 1000} = 0{,}1260$ g N.

Gefunden also

für 1,0	g	HCl-Pepton	0,1260	g N
„ 0,877	„	freies „	0,1260	„ „
„ 1,0	„	„ „	0,1436	„ „

No. II.

Pepton-Blutmischung im Brütofen 4 Stunden

Titrierte Menge	25,0 ccm
— Endtiter	19,4 „
	5,6 „
— Blutdifferenz	1,8 „
Titerdifferenz für 25 ccm	3,8 „
„ „ 500 „	3,8 . 20 ccm

3,8 . 20 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH entsprechen $\frac{14 \cdot 3{,}8 \cdot 20}{10 \cdot 1000} = 0{,}1064$ g N.

Gefunden also

für 1,0	g	HCl-Pepton	0,1064	g N
„ 0,877	„	freies „	0,1064	„ „
„ 1,0	„	„ „	0,1213	„ „

No. III.

Pepton-Blutmischung im Brütofen 8 Stunden

Titrierte Menge	25,0 ccm
— Endtiter	19,2 „
	5,8 „
— Blutdifferenz	1,8 „
Titerdifferenz für 25 ccm	4,0 „
„ „ 500 „	4,0 . 20 ccm

4,0 . 20 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH entsprechen $\frac{14 \cdot 4{,}0 \cdot 20}{10 \cdot 1000} = 0{,}1120$ g N.

Gefunden also

für	1,0	g HCl-Pepton	0,1120	g N
„	0,877	„ freies „	0,1120	„ „
„	1,0	„ „ „	0,1277	„ „

No. IV.

Pepton-Blutmischung im Brütofen 12 Stunden

Titrierte Menge	25,0 ccm
— Endtiter	19,2 „

wie bei No. III.

Also auch gefunden

für	1,0	g HCl-Pepton	0,1120	g N
„	0,877	„ freies „	0,1120	„ „
„	1,0	„ „ „	0,1277	„ „

No. V.

Pepton-Blutmischung im Brütofen 18 Stunden

Titrierte Menge	25,0 ccm
— Endtiter	19,0 „
	6,0 „
— Blutdifferenz	1,8 „
Titerdifferenz für 25 ccm	4,2 „
„ „ 500 „	4,2 . 20 ccm

4,2 . 20 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH entsprechen $\frac{14 \cdot 4{,}2 \cdot 20}{10 \cdot 1000} = 0{,}1176$ g N.

Gefunden also

für	1,0	g HCl-Pepton	0,1176	g N
„	0,877	„ freies „	0,1176	„ „
„	1,0	„ „ „	0,1329	„ „

No. VI.

Pepton-Blutmischung im Brütofen 24 Stunden
Titrierte Menge . . . . . 25,0 ccm
Endtiter . . . . . 19,4 „
wie bei No. II.

Also auch gefunden

für 1,0 g HCl-Pepton 0,1064 g N
„ 0,877 „ freies „ 0,1064 „ „
„ 1,0 „ „ „ 0,1213 „ „

Vergleichende Tabelle der Pepton-Blutproben aus Versuchsreihe No. IV.

No.	Pepton-Blutmischung	Aufenthalt der Mischungen im Brütofen	N-Gehalt in g	
			gefunden für 1 g HCl-Pepton	berechnet für 1 g freies Pepton
I	300 ccm Blut +1 g HCl Pepton	0 Stunden	0,1260 g	0,1436 g
II	„ „	4 „	0,1064 „	0,1213 „
III	„ „	8 „	0,1120 „	0,1277 „
IV	„ „	12 „	0,1120 „	0,1277 „
V	„ „	18 „	0,1176 „	0,1329 „
VI	„ „	24 „	0,1064 „	0,1213 „

Aus dieser Versuchsreihe geht mit Sicherheit hervor, dass das frische defibrinierte Blut ausserhalb des Tierkörpers keinen Einfluss auf das Paal'sche Glutinpepton hat; denn die erhaltenen Werte differieren unter einander so wenig, dass diese Unterschiede allein auf Rechnung der Analyse zu setzen sind.

Da gegen diese Auffassung wohl kaum etwas einzuwenden sein dürfte, so zeigen die oben zusammengestellten Resultate auch gleichzeitig den Grad der Genauigkeit und Sicherheit der angewandten analytischen Methode an. Beim Vergleich mit meinen Stickstoffbestimmungen im Paal'schen Glutinpepton erscheinen die Resultate der Blutversuche ziemlich günstig; denn die Differenz zwischen dem mittleren Wert meiner Peptonanalysen und dem der Stickstoffbestimmungen der Blutversuche beträgt nur 1,64 %. Vielleicht lässt sich bei sehr exacter Ausführung sowohl der Ent-

eiweissung als auch der nachherigen Stickstoffbestimmung dieser Fehler nicht unerheblich verkleinern. Es wäre z. B. schon besser gewesen, wenn ich nicht 25 ccm des Destillats jedes Mal titriert hätte, sondern 50 ccm, da sich dann schon allein die etwaigen Titrationsfehler wesentlich niedriger gestellt hätten.

Tierversuche.

Bei den Tierexperimenten, zu denen ich jetzt übergehe, stellten sich der Anwendung des beschriebenen analytischen Verfahrens noch einige Schwierigkeiten entgegen, deren ich hier Erwähnung thun muss, damit die von mir angegebenen Resultate richtig beurteilt werden können.

Die Aufgabe, welche mir gestellt war, lautete: Einem Tiere (Kaninchen und Hund) wird die Lösung einer bestimmten Menge Paal'schen Peptons in die Blutbahn infundiert, und nach Verlauf gewisser Zeiträume wird das Blut auf seinen Peptongehalt geprüft, entweder indem kleinere Blutproben zur Analyse entnommen werden, oder indem das Tier durch Verbluten getötet und das gesamte Blut zur Peptonbestimmung verwertet wird. Die Analysen sollen ermitteln, ob und in welcher Zeit das Glutinpepton aus dem Blut verschwindet. Falls sich eine rasche Abnahme des Peptongehalts im Blut constatieren lässt, so ist weiterhin der Nachweis zu versuchen, ob das Pepton in die Gewebe und Körpersäfte übergetreten ist.

Bei den ersten Versuchen zeigte es sich, dass man durch einfaches Eröffnen der Carotiden nur einen kleinen Teil der gesamten Blutmenge des Tieres erhält; z. B erhielt ich auf diese Weise von einem Kaninchen von 1650 g Lebendgewicht nur 30 ccm Blut, während die Gesamtblutmenge, zu $^1/_{14}$ vom Körpergewicht angenommen, fast 120 ccm beträgt. Die Stickstoffbestimmung in dem alkoholischen Extract einer so kleinen Blutprobe lässt sich nicht genau genug ausführen, da bei so kleinen Titerdifferenzen, wie man sie dabei erhält, es sehr schwer ins Gewicht fällt, wenn die Grenze des Farbenumschlages auch nur zwischen 1 und 2 Zehntelkubikcentimetern schwankt. Wird dann ein nicht ganz richtiger Wert auf die Gesamtblutmenge durch Multiplication übertragen, so wächst natürlich der Fehler ganz erheblich. Noch unsicherer stellt sich die Berechnung eines Versuchs, wenn man, wie ich es

auch einige Male gethan habe, zur Herausspülung des Blutes physiologische Kochsalzlösung durch eine Vene infundiert hat. Dann ist natürlich die erhaltene Blutflüssigkeit bedeutend grösser; wie gross aber dann die Beimengung an Kochsalzlösung ist, lässt sich höchstens annäherungsweise schätzen. Es ist deshalb unmöglich, mit einiger Genauigkeit den hierbei für einen Bruchteil der Blutflüssigkeit erhaltenen Wert auf das Gesamtblut umzurechnen. Diese Verhältnisse müssen bei allen derartigen Angaben, also auch bei den meinigen, inbetracht gezogen werden. Ich lasse hier zunächst drei Versuche folgen, bei denen ich nur den Stickstoffgehalt der alkoholischen Extracte von Kaninchenblut zu bestimmen suchte, der eventuell bei den späteren Peptoninjectionen von den dort erhaltenen Werten in Abzug zu bringen wäre. Diese ersten Tierversuche benutzte ich zugleich, um daran die für derartige Experimente erforderliche Technik zu erlernen.

Bestimmung des Stickstoffs im alkoholischen Extract vom Kaninchenblut.

I.

Kaninchen A. Lebendgewicht 1650 g.

Behufs Entnahme des Blutes wurde die A. carotis freigelegt und in dieselbe eine Glaskanüle eingebunden, aus der ich das Blut einfach ausfliessen liess. Das Blut wurde bei fast allen Tierversuchen stets in der gleichen Weise sofort in einem Schüttelcylinder, der eine dem zu entnehmenden Blutquantum gleiche Menge 1,5 % alkoholischer Chlorzinklösung enthielt, aufgefangen. Dabei konnte ich auch die Beobachtung machen, die schon Abeles mitgeteilt hat, dass das Blut zuerst hellrot wurde beim Contact mit dem Alkohol. Bald aber färbte es sich ebenso, wie früher schon bei der Coagulation des Rinderblutes angegeben, dunkelbraun und coagulierte ebenfalls zu einem ganz dünnflüssigen Brei. Die weitere Verarbeitung geschah bei allen Tierversuchen in derselben Weise wie bei den früheren Versuchen; auch die Stickstoffbestimmung wurde in der gleichen Weise vorgenommen, nur titrierte ich jetzt jedes Mal 50 ccm von dem auf $^1/_2$ Liter aufgefüllten Destillat.

Menge des beim Verbluten des Kaninchens A erhaltenen Blutes . . . . . 30 ccm

Endtiter für 50 ccm Destillat 49,2 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH
Titerdifferenz „ 50 „ „ 0,8 „ „ „
„ „ 500 „ „ 0,8 . 10 „ „ „

0,8 . 10 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH entsprechen $\frac{0{,}8 \cdot 10 \cdot 14}{10 \cdot 1000}$
$= 0{,}0112$ g N.

II.

Kaninchen B. Lebendgewicht 1650 g.

Die Entnahme des Blutes geschah auch aus der A. carotis, doch wurde während des Verblutens durch eine in die V. jugularis externa eingebundene Kanüle physiologische Kochsalzlösung infundiert, sodass die erhaltene Blutmenge als mit dieser gemischt anzusehen ist.

Blutmenge . . . . . 80 ccm

Endtiter für 50 ccm Destillat 48,0 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH
Titerdifferenz „ 50 „ „ 2,0 „ „ „
„ „ 500 „ „ 2,0 . 10 „ „ „

2,0 . 10 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH entsprechen $\frac{2{,}0 \cdot 10 \cdot 14}{10 \cdot 1000}$
$= 0{,}0280$ g N.

III.

Kaninchen C. Lebendgewicht 2200 g.

Während des Verblutens aus der A. carotis wurde durch die V. cruralis Kochsalzlösung infundiert. Nach der Eröffnung fand sich im Herzen sehr wässeriges Blut, so dass die erhaltene Blutmenge als ziemlich reichlich mit Kochsalzlösung versetzt gelten muss.

Blutmenge . . . . . 132 ccm

Endtiter für 50 ccm Destillat 44,8 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH
Titerdifferenz „ 50 „ „ 5,2 „ „ „
„ „ 500 „ „ 5,2 . 10 „ „ „

5,2 . 10 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH entsprechen $\frac{5{,}2 \cdot 10 \cdot 14}{10 \cdot 1000}$
$= 0{,}0728$ g N.

Versuch Nr.	Lebendgewicht des Kaninchens	Menge des erhaltenen reinen Blutes	Menge des erhaltenen Blutes + Kochsalzlösung	N-gehalt des alkoholischen Blutextractes
I.	1650 g	30 ccm	—	0,0112 g
II.	1650 „	—	80 ccm	0,0280 „
III.	2200 „	—	132 „	0,0714 „

Die Versuche I und II geben fast das gleiche Resultat. In dem Versuch II wurde etwas über die doppelte Stickstoffmenge gefunden, entsprechend der mehr als doppelt so grossen Blutmenge, die dabei zur Untersuchung kam. Der dritte Wert ist aber im Vergleich zu den beiden anderen so beträchtlich grösser, dass man Bedenken tragen muss, aus allen 3 Werten einen mittleren Gehalt des Kaninchenbluts an stickstoffhaltigen Extractivstoffen abzuleiten. Gleichwohl differieren die Ergebnisse des Versuchs I und III nicht so sehr, als es auf den ersten Blick scheinen könnte. Angenommen, Kaninchen A habe $^1/_4$ seines Gesamtblutes abgegeben — bei einem Tier von 1650 g Körpergewicht können nach bekannten physiologischen Regeln 120 ccm Blut als normal angesehen werden —, so würde der Stickstoffgehalt im Extract von seinem Gesamtblut $4 . 0{,}0112 = 0{,}0448$ g oder auf 1 Kilogr. Körpergewicht $\frac{0{,}0448}{1{,}650} = 0{,}0271$ g betragen. Beim Kaninchen C, dessen Blut fast ganz durch Kochsalzlösung verdrängt worden war, betrug der Extractivstickstoff des erhaltenen Blutes 0,0714 g oder auf 1 Kilogr. Körpergewicht $\frac{0{,}0714}{2{,}2} = 0{,}0323$ g. Diese Zahlen dürfen vielleicht als approximative Angaben noch inbetracht gezogen werden.

Stickstoffgehalt der Extracte vom Kaninchen- und Hundeblut nach Peptoninfusion; Peptongehalt des Harns und der Extracte aus einzelnen Organen.

Bei der Beurteilung der Resultate, die ich bei den Stickstoffbestimmungen der alkoholischen Blutextracte von den Tieren, denen ich Peptonlösung infundierte, erhalten habe, drängen sich die gleichen Erwägungen auf wie bei den vorher erwähnten Kochsalzinfusionen.

Durch die Peptoninfusion, deren Menge zwischen 40—100 ccm schwankte, wird natürlich das Blut bedeutend wasserreicher, so dass auch die erhaltenen Blutportionen bezüglich ihrer Concentration unter einander ziemlich stark differieren dürften.

Was die Technik der Versuche anbelangt, so bemerke ich noch, dass als Infusionsstelle in den meisten Fällen die V. jugularis, einige Male auch die V. cruralis diente. Bei den Infusionen von der Jugularis aus stellte es sich als ein Uebelstand heraus, dass die Peptonlösung, wenn sie, rasch infundiert, auf so kurzem Wege in das Herz gelangte, dort in der Regel Störungen hervorrief. Infusionen in die V. cruralis boten dagegen fast niemals irgendwelche Gefahren, was sich leicht daraus erklärt, dass sich die Peptonlösung auf dem langen Wege von der Schenkelvene bis zum Herzen schon mehr mit Blut gemischt hatte.

Natürlich war es nicht angängig, das stark sauer reagierende salzsaure Salz direkt in die Blutbahn zu bringen. Ich versuchte deshalb zuerst nach der von Paal[1]) angegebenen Methode mittelst Silbersulfat salzsäurefreies Pepton herzustellen Mit solchem reinen Glutinpepton sind die ersten beiden Kaninchenversuche ausgeführt. Zum Vergleich zog ich auch das ziemlich reine Grübler'sche Pepton (Pepton. sicc. alcohole praecipitat.) heran und führte damit die Versuche III—VI aus, während in allen späteren Versuchen wieder Paal'sches Glutinpepton verwandt wurde, bei dem die Salzsäure einfach durch Zusatz von Natronlauge bis zur schwach alkalischen Reaktion unschädlich gemacht worden war.

Ich gehe jetzt zu den ersten 4 Versuchen über, in denen ich von den alkoholischen Blutextracten Stickstoffbestimmungen machte. Bei den ersten Versuchen verwandte ich nur kleinere Mengen von salzsäurefreiem Glutinpepton, während ich in den beiden nächsten fast die vierfache Menge von Grübler'schem Pepton infundierte. In allen vier Versuchen wurde die Infusion vortrefflich von den Tieren vertragen. Es zeigten sich zwar einige Male eine ziemlich starke Vertiefung und Verlangsamung der Atemzüge, die aber sehr bald vorüberging, sodass die Tiere wieder vollkommen normal erschienen.

---

1) Loc. cit, p. 1230.

I.

I. Kaninchen D. Lebendgewicht 2320 g.

Peptonmenge ca. 1,4 g reines salzsäurefreies Glutinpepton, gelöst in 35 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

Dauer der Infusion 10 Minuten.

Entnahme des Gesamtblutes 15—20 Minuten nach vollendeter Infusion aus der Carotis.

Menge des erhaltenen Blutes 51 ccm.

Alkoholisches Blutextract: Keine deutliche Biuretreaction.

Stickstoffbestimmung:

Endtiter für 50 ccm Destillat 48,9 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH
Titerdifferenz „ 50 „ „ 1,1 „ „ „
„ „ 500 „ „ 1,1.10 „ „ „

1,1.10 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH entsprechen $\frac{1{,}1 \,.\, 10 \,.\, 14}{10 \,.\, 1000} = 0{,}0154$ g N.

Die Harnblase ist prall gefüllt mit einem stark alkalischen Harn, der ein sehr dickes, unter dem Mikroscop amorph erscheinendes Sediment von anorganischen Salzen enthält, die bei Zusatz von HCl unter reichlicher Gasentwicklung sich völlig auflösen. Der Harn zeigt die Biuretreaction nicht deutlich, da er sehr stark gefärbt ist.

II.

Kaninchen E. Lebendgewicht 1600 g.

Peptonmenge ebenso gross wie in Versuch I. Doch wurde die Alkalescenz der Lösung zuvor durch Zusatz von HCl bis fast zur neutralen Reaction abgestumpft.

Dauer der Infusion 8 Minuten.

Entnahme des Gesamtblutes ca. 20 Minuten nach vollendeter Infusion durch direktes Eröffnen beider Carotiden mittelst Durchschneidung der Weichteile des Halses. Ein Teil des Blutes ging verloren.

Menge des erhaltenen Blutes 23 ccm.

Alkoholisches Blutextract: Keine deutliche Biuretreaction.

Stickstoffbestimmung:

Endtiter für 50 ccm Destillat 48,8 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH
Titerdifferenz „ 50 „ „ 1,2 „ „ „
„ „ 500 „ „ 1,2.10 „ „ „

1,2.10 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH entsprechen $\frac{1{,}2 \,.\, 10 \,.\, 14}{10 \,.\, 1000} = 0{,}0168$ g N.

Die Harnblase ist prall mit völlig klarem Urin gefüllt, der nicht weiter untersucht wurde.

III.

Kaninchen F. Lebendgewicht 3000 g.

Peptonmenge: 4 g Pepton Grübler.

Die Entnahme des Gesamtblutes geschah aus der Carotis, während gleichzeitig von der Jugularis aus noch eine geringe Menge physiologischer Kochsalzlösung infundiert wurde.

Während der Peptoninfusion sowohl als während der Blutentnahme gingen geringe Mengen von der Peptonlösung und dem Blute verloren.

Menge des erhaltenen Blutes 145 ccm.

Alkoholisches Blutextract zeigt deutliche Biuretreaction.

Stickstoffbestimmung:

Endtiter für 50 ccm Destillat 42,3 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH
Titerdifferenz „ 50 „ „ 7,7 „ „ „
„ „ 500 „ „ 7,7.10„ „ „

7,7.10 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH entsprechen $\frac{7,7.10.14}{10.1000}$ = 0,1078 g N.

Der Harn wurde nicht untersucht.

IV.

Kaninchen G. Lebendgewicht 2900 g.

Peptonmenge ebenso gross wie in Versuch III.

Die Infusion der Peptonlösung geschah in die V. cruralis, während in den vorhergehenden Versuchen dazu die V. jugularis externa benutzt worden war.

Entnahme des Gesamtblutes nach ca. 10 Minuten aus der A. carotis wie früher; doch wurde dies Mal keine Kochsalzlösung nachgespült.

Menge des erhaltenen Blutes 97 ccm.

Alkoholisches Blutextract zeigt deutliche Biuretreaction.

Stickstoffbestimmung:

Endtiter für 50 ccm Destillat 46,0 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH
Titerdifferenz „ 50 „ „ 4,0 „ „ „
„ „ 500 „ „ 4,0.10„ „ „

4,0.10 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH entsprechen $\frac{4,0.10.14}{10.1000}$ = 0,0560 g N.

Der Harn wurde nicht untersucht.

In der folgenden Tabelle ist das Ergebnis dieser vier Versuche übersichtlich zusammengestellt.

Versuch Nr.	Lebendgewicht des Kaninchens	Pepton-Menge	Dauer der Infusion	Entnahme des Blutes nach Vollendung der Infusion nach	Blutmenge	Biuretreaction des alkoholischen Blutextractes	Stickstoffgehalt des alkoholischen Blutextractes
I.	2320 g	c. 1,4 g (Paal)	10 Min.	15—20 Min.	51 ccm	Nicht deutlich	0,0154 g
II.	1600 „	„	8 „	ca. 20 „	23 „	„	0,0168 „
III.	3000 „	4 g (Grübler)	c. 15 „	„ 10 „	145 „ + Kochsalzlösung	deutlich	0,1078 „
IV.	2900 „	„	15 „	„ 10 „	97 „	„	0,0560 „

Aus diesen Zahlen geht mit Sicherheit hervor, dass bei Entnahme des Blutes das injicierte Pepton zum allergrössten Teil schon aus dem Blut verschwunden oder doch in unveränderter Gestalt nicht mehr in demselben vorhanden war. Denn die so kleinen Werte in Versuch I und II, welche in keinem Falle auch bei der Umrechnung auf die annähernd zu schätzende Gesamtblutmenge den Stickstoffgehalt eines Grammes Pepton erreichen, sondern ganz beträchtlich darunter bleiben, sind wohl überhaupt nicht oder nur zum allerkleinsten Teil durch die Anwesenheit von Pepton bedingt; sie geben vielmehr nur den Stickstoffgehalt des peptonfreien alkoholischen Blutextractes an, wie auch der Vergleich mit den frühern Resultaten der Untersuchungen des Kaninchenblutes schliessen lässt. In den Versuchen III und IV, bei denen durch die Biuretreaction sich noch die Anwesenheit von Pepton nachweisen liess, rührt aber auch nur ein Teil des gefundenen Stickstoffs von Pepton her, und da von den Kaninchen F. und G. etwa die Hälfte des Gesamtblutes zur Untersuchung gelangte und trotzdem viel weniger Stickstoff gefunden wurde, als 1 g Pepton, d. i. dem vierten Teil der einverleibten Menge entspricht, so ist auch hier als erwiesen zu betrachten, dass der grösste Teil des infundierten Peptons im Verlauf von 10 Minuten aus der Blutbahn verschwunden war.

Es geht also aus diesen Versuchen klar hervor, dass schon nach kurzer Zeit selbst grössere Peptonmengen, die in die Blutbahn gebracht werden, aus derselben verschwinden. Sobald ich diese Einsicht gewonnen hatte, konnte

mir weniger daran liegen, dieses Verschwinden in seinem zeitlichen Verlauf quantitativ zu verfolgen, als über das Schicksal des Peptons etwas zu erfahren. Es genügte mittelst der Biuretreaction sich zu vergewissern, ob in einem Blutextract Pepton noch vorhanden sei oder nicht. Ich gab deshalb bei den späteren Versuchen die Stickstoffbestimmungen der Blutextracte auf und beschränkte mich allein auf den qualitativen Nachweis des Peptons, während ich mich jetzt dazu wandte, zu untersuchen, wo das aus dem Blut verschwundene Pepton geblieben sei. Wenn man die Hypothese von Schmidt-Mühlheim noch gelten lässt, so musste ich erwarten, dass sich das Pepton in den einzelnen Organen aufspeicherte, um dann allmählich entweder in Eiweiss regeneriert oder bei den Lebensprozessen dieser Organe verbrannt zu werden.

Die daraufhin unternommenen Untersuchungen der Organe waren fast immer von negativem Resultate. Ich prüfte die Leber, grössere Muskelmassen und die Nieren. Alle diese Organe wurden sofort nach der Herausnahme aus dem Körper mit dem Wiegemesser zerkleinert und dann in einem Mörser mit alkoholischer Chlorzinklösung übergossen und stark durchgerieben. Der Brei blieb meist über Nacht stehen. Dann wurde abfiltriert, der Rückstand nochmals mit Wasser tüchtig durchgeknetet und ebenfalls aufs Filter geworfen. Meistens wurden der alkoholische und der wässerige Auszug getrennt weiter geprüft. Es konnte sich hierbei selbstverständlich auch nur um den qualitativen Peptonnachweis mittelst der Biuretreaction handeln. Bei der Untersuchung der Leber fand ich nur einige Male äusserst schwache und auch nicht absolut sichere Biuretreaction. Ich bemerke hier ausserdem, dass die alkoholischen und auch die wässerigen Leberextracte stets ziemlich stark milchig getrübt waren. Beim Eindampfen färbten sie sich zumeist dunkel, so dass die Beobachtung der Farbenreaction beträchtlich erschwert wurde.

Von den Muskeln kam in der Regel die Muskulatur des Oberschenkels und der Hüfte zur Untersuchung. Pepton war nie mit absoluter Sicherheit nachzuweisen. Da aber das verwendete Material nur einen kleinen Teil des gesamten Muskelapparates ausmachte, so werden die Angaben hierüber vielleicht bei Verarbeitung grösserer Muskelmassen etwas zu modificieren sein.

Die Nierenextracte gaben in einigen Fällen deutliche Biuret-

reaction, die aber wohl zum grössten Teil auf den Peptongehalt des Harnes zu beziehen ist, der sich stets in der Niere findet.

Mit dem Harn, auf dessen Untersuchung ich in den spätern Tierversuchen vor allem mein Augenmerk richtete, erhielt ich stets sehr starke Biuretreaction. Die Harnsecretion war in fast keinem Fall sistiert, was Schmidt-Mühlheim bei einigen seiner Versuche angiebt, vielmehr wurden in einigen Fällen sogar ganz enorme Mengen entleert, was ja auch bei dem durch die Infusion beträchtlich erhöhten Wassergehalt des Blutes ganz erklärlich ist. Die Versuche stellten sich im einzelnen folgendermassen dar:

V.

Kaninchen H. Lebendgewicht 1850 g.

Peptonmenge: 6,0 g Pepton Grübler, gelöst in 60 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Infusion in die V. jugularis. Das Tier wurde infolge überhasteten Infundierens nach einigen Minuten stark dyspnoisch und starb, nachdem fast die ganze Peptonmenge eingelaufen war, 4 Minuten nach Eintritt der Dyspnoe. Bei der sofort vorgenommenen Obduction zeigte sich das Herz prall gefüllt mit dunkelrotem Blute, das nur langsam gerann. Das Blut aus den grossen Gefässen und dem Herzen wird aufgefangen und in der bekannten Weise auf Pepton untersucht.

Das alkoholische Blutextract zeigt deutliche Biuretreaction.

Die Harnblase ist leer.

Die Nieren werden in der oben angegebenen Weise behandelt. Sowohl das alkoholische als auch das wässerige Nierenextract zeigt deutliche Biuretreaction.

VI.

Kaninchen I. Lebendgewicht 1920 g.

Peptonmenge: 6,0 g Pepton Grübler, in 60,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Die Infusion in die V. cruralis dauert 11 Minuten. Dabei scheint das Tier in tiefe Narkose zu geraten. Die Atmung ist jedoch nach Vollendung der Infusion völlig gleichmässig. Nach weiteren 25 Minuten Entnahme von 18 ccm Blut. (Blutprobe I.)

Diese Blutentziehung vertrug das Kaninchen anscheinend ganz gut; Puls und Atmung blieben regelmässig. Aber nach Verlauf von 30 Minuten, während welcher Zeit das Tier unbeaufsichtigt gelassen wurde, fand ich es tot.

Sofort wurde die Section vorgenommen und aus dem Herzen und den grossen Gefässen noch 40 ccm flüssiges Blut erhalten. (Blutprobe II.)

Das Tier hatte bald nach Vollendung der Infusion Harn gelassen. (Harn I.) Nach dem Tode fand sich die Blase wieder prall gefüllt. (Harn II.)

Blutprobe I: deutliche Biuretreaction.

„ II: „ „

Harn I und II zeigen sehr reichliches Sediment, das bei Zusatz von Salzsäure unter starker Gasentwicklung sich völlig auflöst. Die Biuretreaction fällt nicht deutlich aus, da der Harn sehr dunkel ist. Die Entfärbung wurde mit Tierkohle vorgenommen, aber auch jetzt bleibt die Reaction undeutlich, vielleicht weil in der Tierkohle mit den Farbstoffen auch das Pepton zurückgehalten worden ist.

Nieren: Das alkoholische und das wässerige Extract zeigen deutliche Biuretreaction.

VII.

Kaninchen K. Lebendgewicht 1990 g.

Peptonmenge: 7,0 g Paal'sches Glutinpepton, dessen Lösung mit Natronlauge bis zur schwach alkalischen Reaction versetzt ist. Volumen der Lösung 65 ccm. Die Infusion in die V. jugularis dauert 15 Minuten. Entnahme der ersten Blutprobe 20 Minuten nach Vollendung der Infusion; Blutmenge 17 ccm. Entnahme des Gesamtblutes nach weitern 20 Minuten; Blutmenge 60 ccm.

Sofort nach Vollendung der Infusion lässt das Kaninchen Harn (Harn I); im weiteren Verlauf des Versuchs wird noch viel Harn entleert. (Harn II.) Nach Eröffnung der Bauchhöhle findet sich die Blase prall gefüllt. (Harn III.)

Blutprobe I: Keine deutliche Biuretreaction.

„ II: „ „ „

Der Harn ist absolut klar und ganz hell. Menge des Gesamtharnes ca. 100 ccm.

Harn I: Deutliche Biuretreaction, die noch schöner hervortritt, wenn die Harnfarbstoffe durch basisch essigsaures Blei gefällt werden.

Harn II: Sehr deutliche und starke Biuretreaction.

Harn III: Deutliche Biuretreaction.

Die Nierenextracte zeigen, selbst nachdem sie auf ein ziemlich kleines Volumen eingedampft sind, keine Biuretreaction.

Bei dem Leberextract ist die vorher schon erwähnte milchige Trübung für die Beurteilung der Biuretreaction etwas störend. Beim Eindampfen wird die ganze Lösung dunkelbraun. Auch die durch Bleiessig von der störenden Farbe befreiten Proben zeigen keine Biuretreaction.

VIII.

Kaninchen L. Lebendgewicht 2700 g.

Peptonmenge: 8,0 g neutralisiertes Paal'sches Glutinpepton, gelöst in 70 ccm Wasser.

Während der Infusion in die V. jugularis wurde das Tier stark dyspnoisch, die Atemzüge wurden sehr vertieft und selten (6 in der Minute); die Herzaktion war dabei regelmässig, nur etwas verlangsamt. Infolge dieser drohenden Erscheinungen unterbrach ich nach 15 Minuten die Infusion, nachdem ungefähr 50 ccm der Peptonlösung eingelaufen waren. Nach einiger Zeit erholte sich das Tier wieder vollkommen; doch wurde der Rest der Peptonlösung nicht mehr infundiert. Die Entnahme der ersten Blutprobe aus der Carotis erfolgte ca. 20 Minuten nach Unterbrechung der Infusion, die des Gesamtblutes nach weiteren 25 Minuten, so dass vom Beginn der Infusion bis zur völligen Verblutung reichlich eine Stunde vergangen war.

Der Harn wurde kurz vor der Vollendung der Verblutung teils spontan entleert, teils durch Druck aufs Abdomen ausgepresst.

Blutprobe I: Die alkoholischen und wässerigen Extracte werden zusammengegeben, auf ein kleines Volumen eingedampft und zeigen dann deutliche Biuretreaction.

Blutprobe II: Nach dem Eindampfen der vereinigten alkoholischen und wässerigen Extracte deutliche Biuretreaction.

Der Harn ist stark alkalisch, liefert ein reichliches Sediment und ist von dunkler Farbe. Seine Menge beträgt 45 ccm. Er zeigt die Biuretreaction sehr deutlich, die nach der Ausfällung der Harnfarbstoffe mittels Bleizucker noch schöner hervortritt.

Die Nierenextracte zeigen schwache Biuretreaction.

Die alkoholischen und vor allem die wässerigen Extracte von Leber und Muskeln geben uneingedampft ziemlich deutliche aber schwache Biuretreaction. Beim Eindampfen scheidet sich stets ein

flockiger Niederschlag aus; nach dem Abfiltrieren desselben ist die Reaction entweder ganz verschwunden oder bedeutend schwächer geworden. Der Peptongehalt dieser Organe kann daher nur minimal sein.

IX.

Hund A. Lebendgewicht 3950 g.

Peptonmenge: 12 g Paal'sches Glutinpepton, gelöst in 80 ccm Wasser. Die infundierte Lösung war trotz vorhergegangener Neutralisation schwach sauer, wie sich bei der Prüfung nach der Infusion herausstellte. Am Tage vor dem Versuch hatte ich die Lösung bis zur schwach alkalischen Reaction mit Natronlauge versetzt. Dass am folgenden Tage wieder sauere Reaction hervortrat, findet darin seine Erklärung, dass die an das Pepton sehr fest gebundene Salzsäure nur allmählich sich mit zugefügtem Alkali vereinigt, und dass dann nach Ueberführung des Alkalis in neutral reagierendes Chlorid die saure Reaction eines Restes von Glutinpeptonchlorhydrat wieder zur Geltung kommt.

Während der Infusion in die V. cruralis traten bei dem Hund starke Krämpfe auf, der Puls war beschleunigt und unregelmässig. Die Atmung vertieft und stockend. Schliesslich blieb die Atmung völlig aus, während der Puls noch gut war. Trotz künstlicher Atmung, die ich durch rhythmische Compression des Thorax einleitete, wurde schliesslich auch der Puls unfühlbar, und das Tier starb, nachdem etwa $^2/_3$ der ganzen Peptonmenge eingelaufen waren. Die Dauer der Infusion betrug 15 Minuten. Beim Eintritt der bedrohlichen Erscheinungen wurde sie abgebrochen. Der Tod des Tieres trat erst nach weiteren 15 Minuten ein.

Die Obduction des Cadavers wurde sofort vorgenommen und das Blut aus dem Herzen und den grossen Gefässen aufgefangen. Die Harnblase war prall gefüllt.

Blutmenge 130 ccm.

Blutextract zeigt deutliche und starke Biuretreaction.

Der Harn ist klar und hell, reagiert schwach alkalisch. Er zeigt deutliche, aber schwache Biuretreaction.

Die Nierenextracte zeigen nach dem Eindampfen auch schwache Biuretreaction.

Die Leber- und Muskelextracte verhalten sich, wie beim vorigen Versuch angegeben; deutliche Biuretreaction zeigen sie nicht.

X.

Hund B. Lebendgewicht 5000 g.

Peptonmenge: 10 g Paal'sches Pepton, in 70 ccm Wasser gelöst, schwach alkalisch.

Die Infusion in die V. cruralis ging gut von statten und dauerte im ganzen 25 Minuten. Schon nach kurzer Zeit trat ein soporöser Zustand ein, während dessen behufs anderweitiger Versuche die Exstirpation der Schilddrüsen vorgenommen wurde. Infolge dieses Eingriffes, der noch vor Beendigung der Infusion vollendet war, erwachte der Hund wieder, zeigte aber keine Störung der Atmung und des Pulses.

Das während der Schilddrüsenexstirpation vergossene und aufgefangene Blut (20 ccm) zeigte deutlich eine Abnahme der Gerinnungsfähigkeit. (Blutprobe I.) 5 Minuten nach Vollendung der Infusion wurden 25 ccm Blut aus der Carotis entnommen (Blutprobe II) und sogleich ca. 40 ccm physiologischer Kochsalzlösung von der V. cruralis aus infundiert. Nach Verlauf von weiteren 20 Minuten, während welcher der Hund keine auffallende Erscheinungen darbot, wurde das Gesamtblut durch Verblutung entzogen. (Blutprobe III, Menge 200 ccm.) Die Verblutung währte etwa 15 Minuten. Sofort nach Vollendung der Peptoninfusion liess das Tier spontan Harn (Harn I), nach 10 Minuten wiederum (Harn II), ebenso während des Verblutens (Harn III) und schliesslich noch kurz vor dem Tode (Harn IV).

Extract von Blutprobe I: Deutliche Biuretreaction.

Extract von Blutprobe II: Deutliche Biuretreaction, stärker als in I.

Extract von Blutprobe III: Erst nach dem Eindampfen des ziemlich voluminösen Extractes zeigt sich eine deutliche, aber sehr schwache Biuretreaction.

Das Nierenextract ist etwas bräunlich gefärbt und zeigt die Biuretreaction nicht deutlich. In den Leber- und Muskelextracten fällt auch nach dem Eindampfen die Reaction negativ aus.

Der Harn ist völlig klar und hell, nur die Probe IV durch Kot etwas verunreinigt. Gesamtmenge 240 ccm.

I. Probe: Deutliche und starke Biuretreaction.
II. „ „ „ „ „
III. „ „ „ „ „
IV. „ „ Biuretreaction, aber viel schwächer als in den Harnen I—III.

Aus diesen Versuchen geht mit absoluter Sicherheit hervor, dass nach kurzer Zeit selbst ganz beträchtliche Peptonmengen aus der Blutbahn, in die sie künstlich hineingebracht sind, verschwinden, und zwar um so schneller, je ungestörter die Harnsecretion von statten geht. Das beweist ausser dem letzten noch der Versuch VII und X, wo 40 Minuten nach Beendigung der Infusion sich fast gar kein Pepton im Blute mehr nachweisen liess, während der Harn einen ganz beträchtlichen Peptongehalt durch die Stärke der Biuretreaction zu erkennen gab. Die Organextracte zeigten in diesen Fällen keine oder doch nur sehr schwache Biuretreaction.

Der ganze Verlauf der Tierversuche, bei denen durch reichliche Harnausscheidung eine Entfernung des Peptons, resp. der infundierten grossen Flüssigkeitsmenge stattfand, war ein ungestörter. Die Tiere zeigten fast gar keine Anomalien bezüglich der Atmungs- und Herzthätigkeit. Hieher sind zu zählen die Versuche VII, X und auch VI. In diesem letzten kann ich den unerwarteten Tod des Kaninchens nicht auf Schädigungen, die es durch die Peptoninfusion erlitten hat, schieben, sondern glaube vielmehr, dass es die Entziehung von 18 ccm Blut nicht hat vertragen können.

Der Tod des Kaninchens H erklärt sich zwanglos aus dem infolge zu schnellen Infundierens bei gleichzeitiger völliger Anurie colossal gesteigerten Blutdruck, der vielleicht eine Gehirnhämorrhagie oder Herzlähmung herbeiführte.

Dass wirklich die Blutdrucksteigerung die Ursache der eingetretenen Atmungs- und Pulsstörungen, resp. des Todes in dem einen Fall gewesen ist, dafür spricht auch der Versuch VIII. In diesem traten ebenfalls infolge zu schnellen Infundierens bei anfangs entschieden stockender Harnsecretion starke dyspnoische Beschwerden auf, die nach Unterbrechung der Infusion bald vollkommen schwanden. Der Tod des Hundes A in Versuch IX ist einzig und allein durch den Salzsäuregehalt der Peptonlösung, bei welcher eine nochmalige Prüfung der Reaction kurz vor der Infusion leider versäumt worden war, herbeigeführt.

Es lassen sich also die Todesfälle bei meinen Tierversuchen leicht erklären. Die Ursachen liegen in den angegebenen experimentellen Fehlern — überhastete Infusion von der V. jugularis

aus, Entnahme zu grosser Blutproben, Infusion saurer Peptonlösungen —, die in Zukunft, nachdem einmal darauf hingewiesen ist, bei ähnlichen Versuchen leicht zu vermeiden sein werden. Von einer toxischen Wirkung des Paal'schen Glutinpeptons kann keine Rede sein, wenn Kaninchen 7 g und kleinere Hunde bis zu 20 g von diesem Präparat intravenös aufnehmen können, ohne dass schwere Intoxicationserscheinungen auftreten. Die Ungiftigkeit dieses Peptons ist überdies schon festgestellt worden durch eine im hiesigen physiologischen Institut ausgeführte Experimentaluntersuchung von O. Maerkel[1]), deren Ergebnis sich dahin zusammenfassen lässt, dass überhaupt reine Peptone keine Giftstoffe sind.

Auf Grund meiner Versuche muss ich die Ansicht Hofmeister's, der sich Neumeister später vollkommen anschloss, auch für das Leimpepton als zutreffend anerkennen: auch das Leimpepton ist, wenn es künstlich in die Blutbahn gebracht wird, den Fremdkörpern in derselben zuzuzählen und wird, ebenfalls gleich den Fremdkörpern, möglichst schnell wieder ausgestossen. Der Weg, auf dem dies geschieht, ist wohl hauptsächlich die Ausscheidung durch die Nieren. Ob dieser aber der einzige ist, und ob überhaupt die gesamte zugeführte Leimpeptonmenge ausgeschieden wird, das klarzustellen würde den Rahmen dieser Arbeit weit überschritten haben. Nur darüber suchte ich noch Aufschluss zu gewinnen, wie gross ungefähr die Peptonmenge sei, die während eines Versuches von annähernd derselben Dauer wie die bisher ausgeführten Tierversuche im Harn wieder erscheint. Ich infundierte deshalb eine sehr grosse Menge Paal'schen Glutinpeptons einem mittelgrossen Hunde und bestimmte dann quantitativ den Stickstoff im Blutextract, um ungefähr berechnen zu können, wie viel Pepton bis zur Entnahme des Gesamtblutes noch im Blut zurückgeblieben sei; ferner suchte ich aus dem Harn das Pepton zu isolieren und durch Ermittelung des Stickstoffgehalts quantitativ zu bestimmen.

Der Versuch verlief folgendermassen:

---

1) O. Maerkel, Zur Kenntnis der Giftwirkung der Peptone. Inaug.-Diss. Erlangen 1891.

XI.

Hund C. Lebendgewicht 9100 g.

Peptonmenge: 20 g Paal'sches Glutinpepton, gelöst in 100 ccm Wasser; Lösung durch Natronlauge schwach alkalisch gemacht.

Die Infusion geschah von der V. cruralis aus und dauerte 35 Minuten. Sie verlief ohne jede Störung von seiten des Tieres.

Vor der Infusion wurden 18 ccm Blut aus der A. carotis entnommen (Blutprobe I), 4 Minuten nach Vollendung derselben 25 ccm (Blutprobe II). Nach weiteren 15 Minuten wurde das Tier durch Verbluten getötet. Dauer des Verblutens 17 Minuten. Während desselben wurden noch ca. 150 ccm physiologischer Kochsalzlösung von der V. cruralis aus infundiert. Menge des erhaltenen Blutes 550 ccm (Blutprobe III). Während des ganzen Versuches liess der Hund keinen Harn. Bei der Section zeigte sich die Blase prall gefüllt.

Zur Untersuchung werden ausser Blutproben und Harn auch noch genommen die Nieren, die Leber und die Muskulatur eines Oberschenkels mit Hüfte.

Blutprobe I: Keine Biuretreaction.
„ II: Deutliche Biuretreaction.
„ III: „ „

Die Blutproben II und III zeigen bei der Prüfung sowohl mit Kupfersulfat und Natronlauge als auch mit Nylander's Reagens eine deutliche Vermehrung der reducierenden Substanzen (Zucker?) gegenüber der vor der Infusion entnommenen Blutprobe I.

Die vereinigten Nierenextracte geben nach dem Einengen äusserst schwache Biuretreaction.

Die Leber- und Muskelextracte lassen keine Biuretreaction erkennen, auch nachdem sie auf ein kleines Volum eingeengt sind.

Der Harn, dessen Menge 95 ccm beträgt, ist schwach sauer, sehr wenig getrübt und zeigt sehr starke Biuretreaction.

Bestimmung des Stickstoffs in den Blutextracten II und III nach Kjeldahl-Argutinsky:

Die gesamten alkoholischen und wässerigen Extracte aus den Blutproben II und III werden zusammengegeben und völlig eingedampft und in dem Rückstand der Stickstoff nach Kjeldahl-Argutinsky bestimmt.

Endtiter für 50 ccm Destillat 31,6 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH
Titerdifferenz „ 50 „ „ 18,4 „ „ „ „
„ „ 500 „ „ 18,4 . 10 „ „ „ „

18,4 . 10ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH entsprechen $\frac{18{,}4 \,.\, 10 \,.\, 14}{10 \,.\, 1000} = 0{,}2576$ g N.

Es würde falsch sein, wollte man diese 0,2576 g Stickstoff auf Pepton umrechnen, da dann die normalen stickstoffhaltigen Extractivstoffe des Blutes ganz ausser Acht blieben. Aber selbst wenn man diese viel zu weit gehende Annahme zuliesse, so würden sich entsprechend den 0,2576 g Stickstoff nur etwa 2 g Pepton als der in dem analysierten Blutquantum noch verbliebene Anteil der ganzen infundierten Peptonmenge ergeben; und da etwa nur $^2/_3$ des Gesamtblutes zur Untersuchung kamen, so wäre für das im Körper des Hundes zurückgebliebene Blut ausserdem noch 1 g Pepton in Anrechnung zu bringen. Das Gesamtblut hat somit zur Zeit der Verblutung höchstens noch 3 g Pepton enthalten, oder es sind von den infundierten 20 g Pepton mindestens 17 g während der kurzen Versuchszeit aus der Blutbahn verschwunden.

Aus dem Harn versuchte ich das Pepton auf folgende Weise wieder zu gewinnen: Da das salzsäurefreie Glutinpepton in starkem Alkohol sehr wenig löslich ist, so wird der mit Natronlauge stark alkalisch gemachte Harn völlig eingedampft und der Rückstand mit Alkohol übergossen und verrieben zur Lösung des Harnstoffs, Kreatinins und der übrigen alkohollöslichen Harnbestandteile; die nach dem Abgiessen des Alkohols zurückbleibende syrupöse Masse enthält das Pepton. Eine nicht unbeträchtliche Menge des Peptons ist aber in das alkoholische Extract eingegangen, wie die ziemlich starke Biuretreaction des Extractes beweist. Das alkoholische Extract wird daher zur Trockne gebracht und der Rückstand nochmals mit starkem Alkohol behandelt. Was sich dabei nicht löst, ist Pepton und wird mit der syrupösen Masse, welche die Hauptmenge des Peptons enthält, vereinigt. Die alkoholische Flüssigkeit zeigt jedoch auch jetzt immer noch schwache Biuretreaction; sie wird deshalb auf dem Wasserbade eingedampft und der Rückstand zum dritten Mal mit starkem Alkohol verrieben, unter Zusatz von etwas Äther, der die Abtrennung des Peptons begünstigt. Der alkoholische Auszug

zeigt nunmehr nur eine äusserst schwache Biuretreaction, so dass von einer Wiederholung der Peptonabtrennung abgesehen werden kann.

Die vereinigten alkoholunlöslichen Rückstände stellen eine bräunlich schmierige Masse dar, sie bestehen aus freiem Pepton, anorganischen Harnsalzen, Harnsäure und Uraten. Die Masse wird mit einer geringen Menge Wasser und einigen Kubikcentimetern conc. Salzsäure übergossen zur Überführung des Peptons in das Chlorhydrat, das in Alkohol ja so leicht löslich ist. Bei Zusatz von Alkohol fallen jetzt die anorganischen Harnsalze, Harnsäure und Urate aus, während das HCl-Pepton in Lösung bleibt. Es wird filtriert und der Filterrückstand so lange mit Alkohol ausgewaschen, bis er ein fast weisses, körniges Pulver darstellt; trotzdem gibt eine Probe dieses Pulvers, in Wasser gelöst, noch schwache Biuretreaction, es sind also geringe Peptonmengen auf dem Filter zurückgehalten worden.

Das Filtrat, d. i. die alkoholische Peptonchlorhydratlösung, wird völlig eingedampft, zum Zwecke der Stickstoffbestimmung in conc. Phosphor-Schwefelsäure gelöst und auf 50 ccm damit aufgefüllt; davon werden 10 ccm, also der fünfte Teil, abgenommen, wiederum zu 25 ccm mit conc. Phosphor-Schwefelsäure aufgefüllt und der weitern Behandlung nach Kjeldahl-Argutinsky unterworfen. Es werden zwei Bestimmungen in gleicher Weise ausgeführt, die also beide $^1/_5$ des Gesamtstickstoffs ergeben müssen.

Endtiter für 50 ccm Destillat, aus
beiden Destillaten im Mittel 42,7 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH
Titerdifferenz für 50 ccm Destillat 7,3 „ „ „ „
„ „ 500 „ „ 7,3.10 „ „ „ „

7,3 . 10 ccm $^1/_{10}$ Normal-NaOH entsprechen $\frac{7{,}3 \,.\, 10 \,.\, 14}{10 \,.\, 1000}$ g N.

Dies ergibt für die Gesamtmenge des wiedergewonnenen HCl-Peptons $\frac{5 \,.\, 7{,}3 \,.\, 10 \,.\, 14}{10 \,.\, 1000} = 0{,}5110$ g N.

Der Peptongehalt des Harns beträgt hiernach rund 4 g.

Im Blut und Harn konnten also im ganzen 6—7 g Pepton nachgewiesen werden, d. h. höchstens ein Drittel von der infundierten Menge. Wenn auch meine Methode der Wiedergewinnung des Peptons aus dem Harn recht mangelhaft ist, so steht doch fest, dass die Hauptmenge des Peptons in dem letzten alkoholisch-salzsauren Extract vorhanden war, also auch zur Stickstoffbestim-

mung kam. Aus dem Blute, von dem ich sicher $^2/_3$ der Gesamtmenge zur Untersuchung brachte, konnte ich noch nicht 2 g Pepton wieder erhalten. Es bleibt deshalb vorläufig unerwiesen, wo der übrige, bei weitem grössere Teil des infundierten Peptons zu suchen und was aus ihm geworden ist. Höchst wahrscheinlich tritt es gleichmässig in alle Gewebe des Körpers über. Die Untersuchungen von Leber und Muskel haben freilich kein befriedigendes Resultat ergeben. Das kann nicht recht Wunder nehmen; denn die untersuchten Massen stellen einen so geringen Bruchteil vom Gesamtkörper dar, dass sich in ihnen bei gleichmässiger Verteilung des Peptons über den ganzen Körper nur sehr minimale Peptonmengen befinden können, bei denen auch der qualitative Nachweis nicht immer gelingt.

Es ist anzunehmen, dass der Körper sich im Laufe eines gewissen Zeitraumes des gesamten in die Blutbahn gebrachten Peptons wieder entledigt. In welcher Zeit und auf welchen Wegen dies geschieht, ob die Ausscheidung allein durch die Nieren erfolgt und ob sie mit der Harnaussonderung parallel geht, müssen erst noch genaue quantitative Bestimmungen nach bessern Methoden, als ich anwenden konnte, lehren.

Die Aufgabe, die mir gestellt war, kann ich als gelöst betrachten und das erhaltene Resultat in folgendem etwa zusammenfassen:

Die Leimpeptone, von denen ich wohl das beste bisher dargestellte Präparat in dem C. Paal'schen salzsauren Glutinpepton zur Verfügung hatte, verhalten sich bei der direkten Einführung in die Blutbahn genau so, wie die daraufhin schon untersuchten Eiweisspeptone, d. h. sie lassen sich nach einer gewissen Zeit mit Hilfe der gebräuchlichen Methoden nicht mehr in dem Blute nachweisen. Dies Verschwinden geht um so schneller vor sich, je weniger die Harnabsonderung stockt. Schon 15 bis 20 Minuten nach der Infusion sind beträchtliche Peptonmengen in den Harn übergetreten, und es scheint, dass der Weg durch die Nieren der Hauptweg, vielleicht auch der einzige für die Aussonderung der Leimpeptone ist. Ob aber ein infundiertes Leimpepton vollständig wieder ausgeschieden wird, oder ob es nicht zum Teil im Körper zurückgehalten und verbraucht werden kann, bleibt noch unentschieden.

Am Schlusse meiner Arbeit danke ich Herrn Professor Dr. J. Rosenthal dafür, dass er in liebenswürdigster Weise mir die Benutzung des physiologischen Instituts und seiner Einrichtungen bei Anfertigung dieser Arbeit gestattet hat. Mein besonderer Dank gebührt dem Assistenten des Instituts, Herrn Dr. O. Schulz, für die Anregung zu dieser Arbeit und die allzeit hilfreiche Unterstützung und Anleitung, die er bei der Anfertigung und Ausarbeitung derselben mir stets gewährt hat.